

INSTITUT POLYTECHNIQUE DE TOULOUSE

Mémoire présenté pour obtenir :

L'HABILITATION A DIRIGER DES RECHERCHES

Physiologie de la Maturation du Fruit et Elaboration de la Qualité

Présenté et soutenu publiquement par

Didier MBEGUIE-A-MBEGUIE

Chercheur au CIRAD, UMR 95 QUALISUD

Soutenance le 05 avril 2013 devant la commission d'examen composée de:

Pr Mondher BOUZAYEN, INPT-UMR990, Examineur

Pr Jean Claude PECH, INRA-UMR990, Rapporteur

Dr Marc LAHAYE, INRA-UMR BIA, Rapporteur

Dr Kodjo TOMEKPE, CIRAD-UMR AGAP, Rapporteur

Dr Alain PALLOIX, INRA-GAFL, Examineur

REMERCIEMENTS

Je souhaiterais remercier, en tout premier lieu, le Cirad, pour m'avoir donné l'opportunité de travailler sur la banane, et par la même occasion de me rapprocher scientifiquement et géographiquement des tropiques. Je tiens à remercier en particulier Jacky Ganry, parti trop tôt, et Frédéric Bakry, respectivement à la direction scientifique du département Fihor et du Programme Bananiers et Plantains, d'avoir cru à l'intérêt de la physiologie du fruit dans le programme d'amélioration variétale. Merci à vous de m'avoir accordé votre confiance lors de mon recrutement et d'avoir continué à suivre les travaux au cours des années qui ont suivi malgré les multiples évolutions.

J'exprime ma gratitude auprès du Pr. M. BOUZAYEN d'avoir accepté d'être mon tuteur. Ton soutien et tes conseils m'ont été très précieux dans mon épanouissement humain et scientifique.

Aux rapporteurs, Pr. J.C. Pech, aux Dr M. Lahaye et K. Tomekpe et examinateurs, M. Bouzayen et A. Palloix, merci d'avoir accepté de faire parti de ce jury d'HDR.

Cette HDR n'existerait pas sans l'ensemble des personnes rencontrées tout le long de mon parcours professionnel, les cousins d'Avignon dans mes premières années et l'ensemble des collègues de la station Cirad Neufchâteau qui m'ont accueilli et accepté malgré leurs doutes sur ce que « cette compétence en physiologie de la maturation du fruit » allait pouvoir apporter au programme d'amélioration variétale banane. Merci à Olivier toujours à mes côtés, Marc (M6 Zlatanné), Bernard, avec qui nous avons initié les travaux sur la physiologie de maturation de la banane à Neufchâteau.

Mes remerciements vont également à Christophe « le sensoriel » de Martinique et aux barbus Franky et Jean-Louis de l'UMR AGAP pour nos échanges en génomique. Ensemble nous avons appris à développer une collaboration aujourd'hui basée sur la co-construction, une relation de confiance et de respect mutuel, le type de relation institutionnelle et personnelle que je souhaite à tout scientifique.

A la grande famille, merci pour tout. A Pierre « médaille d'or » et Anne, je vous remercie pour la formidable « leçon de vie » que vous nous donnez tous les jours. Je vous considère comme un exemple de courage et de persévérance dans l'effort. Preuve que le seul le travail paie.

A mes femmes n°0(Corinne), n°1 (Chloé), n°2 (Emma) et n°3 (Léa), merci de me supporter tous les jours. Toutes mes excuses pour mes prochaines absences et ça ne va pas aller en s'arrangeant.

Je remercie de tout cœur les étudiants qui ont accepté de travailler à mes côtés malgré les difficultés. Vous m'avez beaucoup apporté humainement que j'espère vous avoir apporté scientifiquement. Je vous remercie pour votre aide dans le développement de ces travaux. La relation encadrant-étudiant est un équilibre subtil et parfois difficile à trouver ; je suis heureux aujourd'hui du devenir de certains d'entre vous.

Je remercie ma famille d'accepter, avec certes de plus en plus de difficulté, la distance qui nous sépare.

SOMMAIRE

1. Avant propos	1
2. Abréviations et Glossaire	2
3. Curriculum vitae	3
3.1. Cursus Personnel	3
3.2. Cursus Universitaire	3
3.3. Situation professionnelle et Parcours Scientifique	3
3.4. Activités de formation par la recherche	4
3.4.1. Co-encadrement de thèses	4
3.4.2. Participation aux comités de thèse	5
3.4.3. Participation au jury de thèse	5
3.4.4. Encadrement d'étudiants de 2 ^e cycle	6
3.4.5. Encadrement de personnel permanent	6
3.5. Activités d'enseignement	6
3.6. Relecteur pour journaux scientifiques	7
3.7. Liste de publications et communications	7
3.7.1. Publications scientifiques écrites	7
3.7.1.1. Indices bibliométriques de l'ISI (Institut of Scientific Information)	7
3.7.1.2. Publication dans des revues à comité de lecture international/national	7
3.7.1.3. Publication dans revue international/national sans comité de lecture	8
3.7.1.4. Ouvrages ou chapitres d'ouvrage	8
3.7.1.5. Actes de congrès	9
3.7.2. Communication dans des congrès et colloques avec/ou sans comité de lecture international	9
3.7.2.1. Communications orales	9
3.7.2.2. Communications par voie d'affiches	9
3.7.3. Rapports d'études, de missions, de bilans, d'analyses, d'expérimentations, documents d'animation	10
3.8. Réalisations organisationnelles	11
3.8.1. Animation et/ou participation à des réseaux scientifiques	11
3.8.2. Administration de la recherche – Résultats financiers liés à l'activité	11
3.8.3. Responsabilités diverses	11
4. Synthèse des travaux scientifiques	12
4.1. Obtention des ressources de génomique fonctionnelle	13
4.1.1. L'abricot	13
4.1.2. La banane	14
4.2. Mécanismes physiologiques de la maturation du fruit	14
4.2.1. La biosynthèse de l'éthylène de maturation	14
4.2.1.1. L'abricot	15
4.2.1.2. La banane	17
4.2.2. Le mode d'action de l'éthylène chez la banane	19
4.2.3. Modifications des parois cellulaires associées à la maturation	23
4.2.3.1. La perte de fermeté au cours de la maturation de l'abricot	23
4.2.3.2. Les Modifications des parois cellulaires associées à la maturation de la banane : le dégrain	24
4.2.4. Le métabolisme des sucres	25
4.2.5. Le métabolisme secondaire	26
5. Bilan critique des travaux scientifiques	27
5.1. Génération de ressources génomiques	27
5.2. Contribution à la compréhension des mécanismes physiologiques de la maturation	27
5.3. Proposition de plusieurs gènes candidats dans la perspective d'identification de marqueurs	28

moléculaires	
6. Projet Scientifique	29
6.1. Contexte	29
6.2. Problématique amélioration de la qualité de la banane et enjeux	29
6.3. Activités de recherche envisagées	30
6.3.1. <i>Action 1 : Caractérisation physico-chimique des différentes variétés de banane et identification des variétés contrastées</i>	31
6.3.2. <i>Action 2 : Mécanismes physiologiques – Identification et validation des gènes candidats – Dérivation des marqueurs moléculaires</i>	31
6.3.2.1. <i>L'éthylène</i>	32
6.3.2.2. <i>Le dégrain</i>	32
6.3.2.3. <i>Le métabolisme du sucre</i>	33
6.3.2.4. <i>Le métabolisme de la dopamine</i>	33
7. Références bibliographiques	34
8. Annexes	37

1. Avant propos

Mon arrivée en France en 1991 (en Auvergne !!!!!) m'a offert l'opportunité de réaliser des études supérieures dans des conditions plus confortables que je ne l'aurai espéré. Malgré les difficultés liées à l'éloignement géographique, l'apprentissage de nouveaux us et coutumes (découverte du fromage et de la soupe !!!!!), ce fut aussi une formidable l'opportunité de faire de nouvelles rencontres, belles, très enrichissantes sur les plans humains et intellectuels. Rencontres qui perdurent.

Le passage à l'INRA d'Avignon dans le cadre de mon stage de DEA m'a permis d'intégrer le monde de la recherche en biologie végétale en générale et celui de la maturation des fruits en particulier. A la suite de mon DEA, j'ai poursuivi mon apprentissage dans le monde de la recherche par une thèse (1996-2000) suivi d'un séjour postdoctoral à l'INRA de Guadeloupe et enfin en intégrant en 2001 comme chercheur un centre de recherche, le CIRAD.

La maturation des fruits est une phase importante de son développement durant laquelle s'opèrent les modifications majeures à l'origine de sa qualité finale. Mon intérêt pour ce processus physiologique s'explique par la triple importance de la qualité fruit :

- **Importance économique** : la qualité du fruit exprimée à travers sa couleur, ses propriétés organoleptiques, texturales..., constitue un des déterminants majeurs de sa valeur commerciale, de ce fait, elle impacte directement les revenus des acteurs de la filière.
- **Importance en terme de santé humaine** : de part leur richesse en composés d'intérêt nutritionnelles, de vitamines, de composés crédités de propriétés biologiques d'intérêt pour la santé humaine. D'ailleurs, une des conclusions du récent colloque international sur l'horticulture dans les villes organisé par la FAO à Dakar en 2010 a clairement fait le lien entre la faible consommation des fruits et légumes par la population africaine et le développement de l'obésité et les maladies cardiovasculaires.
- **Importance biologique** : le processus de maturation du fruit constitue une étape incontournable à l'aboutissement de la fonction reproductrice sexuée chez certaines plantes. En effet, les composantes de la qualité (couleurs, arômes etc) sont également des traits attractifs des fruits vis-à-vis des animaux et des hommes. Ces derniers, dans un rôle de vecteur, participent aux processus de reproduction et de dispersion des espèces en consommant puis restituant dans la nature les graines après une phase de digestion qui peut, de plus s'avérer indispensable pour la germination des graines.

Mes activités de recherche sur le thème de la maturation des fruits, ce sont 16 années de travail avec certes quelques déceptions, qui finissent toujours par être surmontées heureusement, mais surtout énormément de moments de joie intense. Les joies, c'est avant tout la possibilité de progresser dans la connaissance à travers la maîtrise des techniques nouvelles, le travail en équipe, des rencontres et échanges scientifiques enrichissants, l'encadrement d'étudiants valeureux, des résultats valorisés et enfin un travail collectif reconnu.

Ce parcours n'a certes pas été rectiligne tant au niveau des modèles d'études (abricot un fruit tempéré à noyau et maintenant banane fruit tropical à graine et/ou parthénocarpique) que de l'approche (physico-chimie, biochimie, biologie moléculaire), mais il m'a permis : i) d'avoir une vue assez globale sur ce processus physiologique complexe qu'est la maturation des fruits, ii) de saisir tout l'intérêt qu'il y a à conduire une approche multidisciplinaire sur cette thématique, iii) par conséquent la nécessité d'inscrire un travail de recherche dans une dynamique d'ouverture et d'interaction permanentes. Partant du principe que «un bras ne peut attacher un paquet (Proverbe africain) », comment pourrait-on en effet imaginer comprendre un phénomène aussi complexe autrement que par une approche pluridisciplinaire ?

C'est ce parcours que décrit ce mémoire préparé en vue d'obtenir l'Habilitation à Diriger les Recherches (HDR). L'obtention de cette HDR s'inscrit dans ma volonté d'aller de l'avant. Elle est l'expression d'une maturité scientifique que je pense avoir atteint et qu'il convient maintenant de mettre à profit.

Je tiens à remercier tous les membres du jury d'HDR d'avoir accepté de consacrer de leur temps à connaître et comprendre ce parcours.

2. Abréviations et Glossaire

2.1. Liste des abréviations

AA : Bananier diploïde à deux genomes Acuminata

°J : degré-jour. Cumul des températures journalières avec un seuil défini (en général 14°C)

DVV. Durée de vie verte des fruits après récolte

FNC. Fruit non climactérique

FC. Fruit climactérique

IFJ : Intervalle floraison-coupe (récolte) du régime

JAF : jour après floraison

SNPs : Single nucleotide polymorphism

SSR : Simple Sequence Repeat

2.1. Glossaire

Cultivar : Variété cultivée

Dégrain : Fragilité du pédicelle du fruit entraînant le détachement prématuré de la banane dès la sortie de mûrisserie

Doigt : Un fruit ou une banane produit du développement de la fleur femelle

Durée de vie verte (DVV) : Temps écoulé entre la récolte et le début de la phase climactérique

Fruit climactérique : Fruit dont le processus de maturation se caractérise par une émission autocatalytique de l'éthylène associée à une crise respiratoire (ou crise climactérique). Une fois la capacité à répondre à l'éthylène acquise, ils ont la propriété d'autonomie de maturation.

Fruit non climactérique : les fruits non-climactériques sont à l'inverse des fruits qui ne peuvent mûrir après récolte. Ils ne présentent pas de synthèse auto-catalytique d'éthylène ni de crise respiratoire. L'éthylène accélère leur sénescence d'autonomie de maturation et le taux de respiration évolue relativement peu et a même tendance à diminuer

Phase climactérique : phase de maturation du fruit climactérique correspondant à la forte production d'éthylène et activité respiratoire (crise climactérique)

Phase préclimactérique : phase de développement du fruit climactérique précédant la crise climactérique.

Main : Ensemble de deux rangées de fleurs du bananier implantées sur un coussinet

Murs d'arrivage : Fruits mûrs (couleur jaune) à l'entrée en mûrisserie, impropres à la commercialisation

Fruit vert immature : Fruit préclimactérique n'ayant pas acquis la capacité à répondre à l'éthylène ni l'autonomie de maturation. Il ne peut mûrir détaché du pied mère.

Fruit vert mature : Fruit climactérique ayant acquis la capacité à répondre à l'éthylène et l'autonomie de maturation.

3. Curriculum vitae

3.1. Cursus Personnel

NOM : MBEGUIE-A-MBEGUIE
 PRENOM : Didier
 DATE ET LIEU DE NAISSANCE : 09 juillet 1972 à Douala, Cameroun
 SITUATION FAMILIALE : Marié
 ADRESSE PERSONNELLE : Chemin de la Sarde,
 Sainte-Marie
 97130 Capesterre-Belle-Eau, France

 ADRESSE PROFESSIONNELLE: CIRAD
 Station Neufchâteau, BELAIR
 Sainte Marie
 97130 Capesterre-Belle-Eau
 Tel : 05 90 86 17 70
 Fax : 05 90 86 80 77
 email : didier.mbeguie-a-mbeguie@cirad.fr Tél: +55 73 3680 5196

 PAGES WEB:
 Cirad: <http://www.cirad.fr/>
 UESC: http://antilles-guyane.cirad.fr/aux_antilles_et_en_guyane/guadeloupe/site_de_neufchateau
 Umr : <http://umr-qualisud.cirad.fr/>

3.2. Cursus Universitaire

2000 : Doctorat de l'Université d'Aix-Marseille III,
 Faculté des Sciences et techniques de St-Jérôme – Université d'Aix-Marseille III
 Directeur de thèse : A. PUIGSERVER

1996 : DEA Nutrition, option pathologie microbienne et virale,
 Faculté des Sciences et techniques de St-Jérôme – Université d'Aix-Marseille III

1995 : Maîtrise de biologie cellulaire et moléculaire, Option physiologie végétale,
 Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand

1994 : Licence de biologie cellulaire et moléculaire, Option physiologie végétale,
 Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand

1993 : Diplôme d'Etudes Universitaires Générales, série "sciences de la nature et de la vie",
 Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand

1991 : Baccalauréat série D

3.3. Situation professionnelle et Parcours scientifique

Situation professionnelle actuelle : Chercheur Cirad
 Rattachée au Département PERSYST (performance des Systèmes de production et de transformations tropicaux), UMR QualiSud (démarche intégrée pour l'obtention d'aliments de qualité)
2010 - à ce jour: Affectation à l'UMR QUALISUD et basé au CIRAD Neufchâteau (Guadeloupe)
2006-2009 : Affectation à l'UMR QUALITROP et basé au CIRAD Neufchâteau (Guadeloupe)
2001-2005 : **Recrutement au CIRAD** au poste de physiologiste de la maturation de la banane et qualité du fruit du programme Banane-Plantain-Ananas et basé au CIRAD Neufchâteau (Guadeloupe)
2000-2001 : **Stage Post-doctoral** à l'INRA Antilles Guyane, l'URTPV et basé au laboratoire de biologie moléculaire du CIRAD Neufchâteau (Guadeloupe).

3.4. Activités de formation par la recherche

3.4.1. Co-encadrement des thèses

2009-2012 : **Mme Christelle BONNET-BRUNO**

Valorisation de la banane Cavendish FWI, à différents stades physiologiques de récolte pour l'obtention par procédés de chimie verte de molécules d'intérêt biologique impliquées dans des activités anti-ulcères et cardiovasculaires

Ecole doctorale Université Antilles Guyane / UMR QUALISUD (Montpellier).

Soutenue le 21 Septembre 2012

2009-2012: **Mlle Suzie ZOZIO**

Evaluation de la qualité nutritionnelle de différentes accessions de pomme-surette (Ziziphus mauritiana Lam.) en vue de sa valorisation

Ecole doctorale Université Antilles Guyane / UMR QUALISUD (Montpellier).

Soutenance prévue le 1^{er} semestre 2013

Ces deux thèses inscrites à l'école doctorale de l'université Antilles Guyane se sont déroulées pour partie en France métropolitaine (UMR QUALISUD Montpellier, INP-ENSIACET Toulouse) et, sous ma responsabilité, en Guadeloupe au sein du laboratoire de caractérisation physico-chimique. Les activités réalisées en Guadeloupe ont consisté à suivre le processus de maturation post-récolte des fruits (la banane et la pomme surette) à travers les mesures de quelques paramètres physico-chimiques (éthylène, fermeté, couleur, °Brix, acidité titrable). La mise en place de ce laboratoire de caractérisation physicochimique (équipement et développement des protocoles expérimentaux) constitue une des réalisations physiques acquises dans le cadre de mes activités sur la physiologie de la maturation des fruits.

Les activités encadrées durant ces travaux de thèse ont, pour ces deux fruits, abouti à :

- A la discrimination et l'échantillonnage objectif des fruits de différentes accessions de pomme surette et de banane récoltées à différentes périodes de l'année,
- A la prise en compte la physiologie du fruit et de processus de maturation post-récolte dans l'évaluation de son potentiel de qualité.

Publications :

Bruno-Bonnet C., Hubert O., **Mbéguié-A-Mbéguié D.**, Pallet D., Hiol A., Reynes M., Pourcheret P. 2012. Effect of the physiological harvest stages on composition of bioactive compounds from FWI Cavendish bananas. Journal of Zhejiang University-SCIENCE B (accepté sous réserve de révisions mineures).

Zozio S., Hubert O., Hiol A., Pallet D., Reynes M., **Mbéguié-A-Mbéguié D.** 2012. Physicochemical characterization, during ripening *IN-Planta* and after postharvest treatments, of JUJUBE fruits (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) from two accessions grown in Guadeloupe. En préparation

2011-2013: **Cyril JOURDA**

Organisation du génome du bananier et analyse pan-génomique de la structure, la diversité et l'évolution des gènes impliqués dans le développement et la qualité du fruit

Ecole doctorale SIBAGHE

Thèse en cours

Cette thèse s'inscrit dans la continuité du projet de séquençage du génome du bananier auquel j'ai participé (co-construction du volet qualité du fruit du projet, réalisation expérimentale, analyse et valorisation des résultats). Un des objectifs de la thèse est d'analyser la diversité et l'évolution des gènes impliqués dans la maturation du fruit et l'élaboration de sa qualité. Dans le cadre de cette thèse, j'ai co-encadré l'étudiant pour les aspects liés à l'éthylène, l'hormone de la maturation (analyse et valorisation des résultats de physico-chimiques et de données transcriptomique haut débit). L'étudiant a réalisé une mission de 15 jours en Guadeloupe, sous mon encadrement. Durant son séjour, l'étudiant a examiné l'effet du stade de récolte des fruits sur leur production de l'éthylène.

Publications :

Jourda C., Mbégué-A-Mbégué D., DaSilva C., Labadie K., Cardi C., D'Hont A., Nabila Yahiaoui N. 2012. Evolution of gene families involved in banana fruit development and ripening. Plant and Animal Genome XXI Conference: 12-16 jan. 2013. Town & Country Hotel in San Diego, California. Communication acceptée

D'Hont A., Denoeud F., Aury J.-A., Baurens F.-C., Carreel F., Garsmeur O., Noel B., Bocs S., Droc G., Rouard M., Da Silva C., Jabbari K., Cardi C., Poulain J., Souquet M., Labadie K., **Jourda C.**, Lengellé J., Rodier-Goud M., Alberti A., Bernard M., Correa M., Ayyampalayam S., Mckain M.R., Leebens-Mack J., Burgess D., Freeling M., **Mbégué-A-Mbégué D.**, Chabannes M., Wicker T., Panaud O., Barbosa J., Hribova E., Heslop-Harrison P., Habas R., Rivallan R., Francois P., Poirion C., Kilian A., Burthia D., Jenny C., Bakry F., Brown S., Guignon V., Kema G., Dita M., Waalwijk C., Joseph S., Dievart A., Jaillon O., Leclercq J., Argout X., Lyons E., Almeida A., Jeridi M., Dolezel J., Roux N., Risterucci A.-M., Weissenbach J., Ruiz M., Glaszmann J.-C., Quétier F., Yahiaoui N., Wincker P. 2012. , The banana (*Musa acuminata*) genome and the evolution of monocotyledonous plants. Nature 488(7410):213-217.

3.4.2. Participation aux comités de pilotage de thèse**2011-2013 : Audrey ETIENNE**

Analyse des facteurs génétiques et écophysiologiques impliqués dans l'accumulation des acides organiques chez la banane

Ecole doctorale Université Antilles Guyane.

Thèse en cours

Je ne participe pas à l'encadrement de cette thèse. Cependant, mon implication dans le comité de pilotage s'explique par le fait qu'une des actions de recherche que je développe porte sur les mécanismes physiologiques associés à la qualité organoleptique du fruit et plus particulièrement sa composante saveur. Chez les fruits, celle-ci résulte de l'équilibre sucre solubles/acide. Si le métabolisme des sucres chez la banane a fait l'objet de nombreuses études, on ne sait peu de choses sur le volet acide, d'une part en terme de composés majeurs impactant l'acidité titrable du fruit et, d'autre part, des voies métaboliques associées et leur régulation par des facteurs intrinsèques (génome) et extrinsèques (environnement).

Dans le cadre de ce comité, j'ai participé aux réunions de pilotage et aux échanges scientifiques relatifs à l'analyse des résultats. Ce travail a abouti à la rédaction d'un article de synthèse sur le contrôle de l'acidité dans le fruit.

Publication :

Etienne A., Génard M., Lobit P., **Mbégué-A-Mbégué D.,** Bugaud C. 2013. What controls fleshy fruit acidity? A review of malate and citrate accumulation in fruit cells *J. Exp. Bot.* (sous presse) doi:10.1093/jxb/ert035

2008-2010 : Loïc AMBOULE

Analyse du transcriptome des souches virulentes et atténuées d'Ehrlichia ruminantium et application au développement de vaccin de deuxième génération

Ecole Doctorale de l'Université Antilles Guyane

Thèse soutenue le 30 juin 2010

Le thème de recherche traité dans le cadre de cette thèse étant très éloigné de mon domaine de compétence, j'ai participé à ce comité de pilotage de thèse en tant qu'observateur extérieur et spécialiste en biologie moléculaire.

2009-2001 : Astrid RIMBAULT

Le brunissement interne de l'ananas (Ananas comosus (L.) M.) induit par un traitement au froid en post-récolte : physiopathie, mise au point d'outils moléculaires, expression de gènes et activités enzymatiques impliquées dans le catabolisme protéique

Ecole doctorale de l'université Paris EST Science Ingénierie et Environnement

Thèse soutenue le 9 Décembre 2011

J'ai participé à ce comité de pilotage de thèse en tant que spécialiste en biologie moléculaire et en maturation des fruits. En effet, le thème de brunissement post-récolte traité dans cette thèse est un désordre physiologique couramment observée chez les fruits aussi bien non climactérique (ananas) que climactérique (banane) en phase de conservation d'où la généralité, indépendamment des espèces, des questions de recherche posées par ce désordre physiologique.

3.4.3. Participation aux jurys de thèse**2012 :** Membre du jury en tant qu'examineur de thèse de Mme Christelle Bonnet-Bruno

Valorisation de la banane Cavendish FWI, à différents stades physiologiques de récolte pour l'obtention par procédés de chimie verte de molécules d'intérêt biologique impliquées dans des activités anti-ulcères et cardiovasculaires

Ecole doctorale Université Antilles Guyane

Thèse soutenue le 21 Septembre 2012

- 2009 : Membre du jury en tant que rapporteur de thèse Mlle Ludivine Lassois
Agronomical and molecular factors influencing bananas (Musa acuminata, AAA, cv 'Grande-Naine') to crown rot disease.
 Université de Liège – Gembloux Agro-Bio Tech
 Thèse soutenue le 17 décembre 2009.

3.4.4. Encadrement d'étudiants de 2^e cycle

- 2012 :** **Emilie Louise BERNARD**
Dynamique et mise en place des mécanismes associés à l'élaboration de la banane : Etude du métabolisme des acides organiques
Master 2 : Université PARIS-DIDEROT - Sorbonne paris Cité - Institut des Sciences du végétal
- 2008 :** **Gilbert PIRAL**
Effet de la date de récolte et des conditions de maturation sur l'évolution post-récolte de l'évolution des critères de qualité du fruit et étude des mécanismes associés
Diplôme d'ingénieur des techniques Agricoles, stage de fin d'étude, ENITA de Clermont-Ferrand. 30p
Ingénieur au CTCS (centre technique de la canne à sucre) - Guadeloupe
- 2003 :** **Sacha BAUDOIN**
Physiologie moléculaire du métabolisme des sucres chez la banane : analyse comparée entre une variété de banane dessert et une à cuire au cours de leur maturation sur pied et hors du pied
DAA « Production végétale et valorisation des agros-ressources (PEVAGRO) » INP-ENSA Toulouse. 71p
Docteur, R&D Distillerie de Savanna (la Réunion)
- 2002 :** **Marion DALMAIS**
Contribution à l'étude moléculaire de la sensibilité des bananes à l'éthylène : Analyse chez deux variétés de bananes, Poyo et Grande naine, de l'expression des gènes MA-ERS2 et MA-ERS3 codant deux récepteurs de l'éthylène au cours du développement du fruit
Maîtrise IUP-PVIA Université de Picardie Jules Verne. 59p
Ingénieur d'Etude - INRA Unité de Recherche en génomique végétale (Génopole EVRY)
- 2000 :** **Thomas MAURIN**
Etudes préliminaires sur la physiologie moléculaire de la maturation de la banane (Musa accumunata)
Magistère de pharmacologie, Université de Nice - Sophia Antipolis, 15p.
Docteur d'université
- 1998 :** **Carole GRENIER**
Clonage et caractérisation d'un ADNc complet de Zéaxanthine époxydase d'abricot (Prunus armeniaca): Expression spatiale et temporelle
Diplôme Universitaire de technologie, option Biologie Appliquée, Université de Toulon et du Var, 31p.

3.4.5. Encadrement de personnel permanent

- 2002-2007 :** Olivier HUBERT (technicien supérieur), encadrement à 75%.

3.5. Activité d'enseignement

2 heures de cours à l'Université Antilles Guyane en 2010 et en 2011 niveau MASTER

3.6. Relecteurs pour journaux scientifiques

- 2012 : Referee d'article soumis pour publication dans 3 journaux *Applied Biochemistry and Biotechnology*, *AoB Plants* et *Biochemistry Biophysical Acta – General Subject*
- 2010 : Referee d'article soumis pour publication dans deux journaux *African journal of Plant Sciences* et *2 Molecular Plant-Microbe Interactions*
- 2009 : Referee d'articles soumis pour publication dans *Journal of Experimental Botany*

2008 : Referee d'articles soumis pour publication dans 4 journaux *Fruits*, *Journal of Experimental Botany*, *Plant Cell Reports*, *Postharvest Biology and Biotechnology* et *Journal of Plant Physiology*

3.7. Liste des publications et communications

3.7.1. Publications scientifiques écrites

3.7.1.1. Indices bibliométriques de l'ISI (Institute of Scientific Information)

- Nombre de publications référencées : 22
- Nombre des citations : 146 dont 133 sans autocitations
- Facteur H de l'ISI : 8

3.7.1.2. Publication dans des revues à comité de lecture international/national (28)

1. Mbéguié-A-Mbéguié D., Hubert O., Piral G., Galas C., Baurens F.-C. MADS gene expression evokes the involvement of developmental cues in the regulation of Banana finger drop phenomenon (en preparation).
2. Mbéguié-A-Mbéguié D., Hubert O., Piral G., Galas C., Baurens F.-C. 2012. Expression profile of ethylene-related genes in relationship with banana finger drop (en préparation).
3. Etienne A., Génard M., Lobit P., Mbéguié-A-Mbéguié D., Bugaud C. 2013. What controls fleshy fruit acidity? A review of malate and citrate accumulation in fruit cells *J. Exp. Bot.* 64 (6): 1451-1469
4. Bruno-Bonnet C., Hubert O., Mbéguié-A-Mbéguié D., Pallet D., Hiol A., Reynes M., Pourcheret P., 2012. Effect of the physiological harvest stages on composition of bioactive compounds from FWI Cavendish bananas. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B* (sous presse)
5. D'Hont A., Denoeud F., Aury J.-A., Baurens F.-C., Carreel F., Garsmeur O., Noel B., Bocs S., Droc G., Rouard M., Da Silva C., Jabbari K., Cardi C., Poulain J., Souquet M., Labadie K., Jourda C., Lengellé J., Rodier-Goud M., Alberti A., Bernard M., Correa M., Ayyampalayam S., Mckain M.R.,6, Leebens-Mack J., Burgess D., Freeling M., Mbéguié-A-Mbéguié D., Chabannes M., Wicker T., Panaud O., Barbosa J., Hribova E., Heslop-Harrison P., Habas R., Rivallan R., Francois P., Poirion C., Kilian A., Burthia D., Jenny C., Bakry F., Brown S., Guignon V., Kema G., Dita M., Waalwijk C., Joseph S., Dievart A., Jaillon O., Leclercq J., Argout X., Lyons E., Almeida A., Jeridi M., Dolezel J., Roux N., Risterucci A.-M., Weissenbach J., Ruiz M., Glaszmann J.-C., Quétier F., Yahiaoui N., Wincker P. 2012. , The banana (*Musa acuminata*) genome and the evolution of monocotyledonous plants. *Nature* 488(7410):213-217.
6. Fils-Lycaon B., Julianus P., Chillet M., Galas C., Hubert O., Rinaldo D., Mbéguié-A-Mbéguié D. 2011. Acid invertase as a serious candidate to control the balance sucrose versus (glucose + fructose) of banana fruit during ripening. *Scientia Hort.* 129: 197-206.
7. Bugaud C., Deverge E., Marie-Odette Daribo M.-O., Ribeyre F., Fils-Lycaon B., Mbéguié-A-Mbéguié D. 2011. Sensory characterisation enabled the first classification of dessert bananas. *J Sci Food Agric* 91: 992-1000.
8. Rinaldo D., Mbéguié-A-Mbéguié D., Fils-Lycaon B. 2010. Advances on polyphenols and their metabolism in sub-tropical and tropical fruits. *Trends in Food Science & Technology*, 21 (12): 599-606.
9. Baurens F.C., Sidibé-Bocs S., Rouard M., Matsumoto T., Miller RNG, Rodier-Goud M., Mbéguié-A-Mbéguié D. and Yahiaoui N. 2009. Mechanisms of haplotype divergence at the RGA08 nucleotide-binding leucine-rich repeat gene locus in wild banana (*Musa balbisiana*). *BMC Plant Biology*, 10, 149.
10. Hippolyte H., Bakry F., Seguin M., Gardes L., Rivallan R., Risterucci A.-M., Jenny C., Perrier X., Carreel F., Argout X., Piffanelli P., Imtiaz A Khan I. A. , Robert NG Miller R. N. G., Pappas G. J. , Mbéguié-A-Mbéguié D., Matsumoto T., De Bernardinis V., Huttner E., Kilian A., Baurens F.-C., D'Hont A., Cote F. X., Courtois B., Glaszmann J.-C. 2009. A saturated SSR/DaT linkage map of *Musa acuminata* addressing genome rearrangements among bananas. *BMC Plant Biology*. 10:65
11. Mbéguié-A-Mbéguié D., Hubert O., Baurens F.C., Sidibé-Bocs S., Matsumoto T., Chillet M., Fils-Lycaon B. (2009). Expression patterns of cell wall modifying genes from banana during ripening in relationship with finger drop. *Journal of Experimental Botany* 60 (7): 2021-2034.
12. Mbéguié-A-Mbéguié D., Fils-Lycaon B., Chillet M., Hubert O., Galas C., Gimez R.-M. 2008. Extraction and purification of total RNA from banana tissues (small scale). *Fruits* 63:179-181.
13. Fils-Lycaon B., Mbéguié-A-Mbéguié D., Chillet M., Julianus P., Galas C., Gomez R.-M., Hubert O. 2008. Biochemical characterization of pulp of banana fruit: measurement of soluble sugars, organic acids, free ACC and in vitro ACC oxydase. *Fruits* 63: 187-191.
14. Chillet M., de Lapeyre de Bellaire L., Hubert O., Mbéguié-A-Mbéguié D. 2008. Measurement of banana green life. *Fruits* 63(2) : 125-127.
15. Chillet M., de Lapeyre de Bellaire L., Hubert O., Mbéguié-A-Mbéguié D. 2008. Mechanical characterisation of banana fruits. *Fruits* 63 : 51-52. Chillet M., Galas C., Rose-Marie Gomez, Olivier H., Julianus P., Mbéguié-A-Mbéguié D., Fils-Lycaon B. 2005. Is there a relationship between ethylene production of bananas ripened on the plant and the length of the fruit growth period prior to ripening onset? *Fruit* 60:83-89.
16. Mbéguié-A-Mbéguié D., Hubert O., Fils-Lycaon B., Chillet M., Baurens F.-C. 2008. EIN3-like gene expression during fruit ripening of Cavendish banana (*Musa acuminata* cv. Grande naine). *Physiologia Plantarum* 133: 435-448.

17. Mbéguié-A-Mbéguié D., Hubert O., Sabau X., Chillet M., Fils-Lycaon B., Baurens F.-C. 2007. Use of Suppression Subtractive Hybridization approach to identify genes differentially expressed during early banana fruit development undergoing changes in ethylene responsiveness. *Plant Science* 172: 1025-1036
18. Mbéguié-A-Mbéguié D., Gouble B., Gomez R.M., Audergon J.M., Albagnac G., Fils-Lycaon B.R. (2002). Two expansin cDNAs from *Prunus armeniaca* expressed during fruit ripening are differently regulated by ethylene. *Plant Physiol. Biochem.* 40 (5): 445-452.
19. Mbéguié-A-Mbéguié D., Chahine H., Gomez R.-M., Gouble B., Audergon J.-M., Souty M., Albagnac G., Fils-Lycaon B. (1999). Molecular cloning and expression of a ADNC encoding 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) oxydase from apricot fruit (*Prunus armeniaca* cv. Bergeron). *Physiologia Plantarum* 105 : 294-303.
20. Chevallier T., De Rigal D., Mbéguié-A-Mbéguié D., Gauillard F., Forget-Richard F., Fils-Lycaon B. (1999). Molecular cloning and expression of a ADNC polyphenol oxydase isolated from apricot fruit (*Prunus armeniaca* cv. bergeron). *Plant Physiol.* 119 : 1261-1269.
21. Mbéguié-A-Mbéguié D., Gomez R.M., Fils-Lycaon B., (1997). Molecular Cloning and Nucleotide Sequence of a Rab7 Small GTP-Binding Protein from Apricot Fruit (Accession No. U82219). *Gene Expression During Fruit Ripening* (PGR97-117). *Plant Physiol.* 114:1569.
22. Mbéguié-A-Mbéguié D., Gomez R.M., Fils-Lycaon B., (1997). Sequence of an O-Methyltransferase from Apricot Fruit (Accession No. U82011). *Gene Expression During Fruit Ripening* (PGR97-118). *Plant Physiol.* 114: 1569
23. Mbéguié-A-Mbéguié D., Gomez R.M., Fils-Lycaon B., (1997). Molecular Cloning and Nucleotide Sequence of a Metallothionein-like Protein From Apricot Fruit (Accession No. U97494). *Gene Expression During Fruit Ripening* (PGR97-160). *Plant Physiol.* 115 :1288
24. Mbéguié-A-Mbéguié D., Gomez R.M., Fils-Lycaon B., (1997). Molecular Cloning and Nucleotide Sequence of a Protein From Apricot Fruit (Accession No. U82760) Homologous to LEC14B Protein Isolated From Lithospermum. *Gene Expression During Fruit Ripening* (PGR97-161). *Plant Physiol.* 115 :1288
25. Mbéguié-A-Mbéguié D., Gomez R.M., Fils-Lycaon B., (1997). Molecular Cloning and Nucleotide Sequence of an Absciscic Acid-, Stress-, Ripening-Induced (ASR) -Like Protein From Apricot Fruit (Accession No. U93164). *Gene Expression During Fruit Ripening* (PGR97-166). *Plant Physiol.* 115 :1288
26. Mbéguié-A-Mbéguié D., Gomez R.M., Fils-Lycaon B., (1997). Sequence of AFTP1, a Cysteine Proteinase From Apricot Fruit (Accession No. U93166). *Gene Expression During Fruit Ripening* (PGR97-179). *Plant Physiol.* 115: 1730
27. Mbéguié-A-Mbéguié D., Gomez R.M., Fils-Lycaon B., (1997). Sequence of an Allergen-, Stress-, and Pathogenesis-related Protein From Apricot Fruit (Accession No. U93165). *Gene Expression During Fruit Ripening* (PGR97-180). *Plant Physiol.* 115: 1730
28. Mbéguié-A-Mbéguié D., Fils-Lycaon B. (2000). Molecular Cloning and Nucleotide Sequences of PA-ZE (Accession No. AF071888) and PA-ZE2 (Accession No. AF159948), Two cDNAs From Apricot Fruit Coding For a Zeaxanthin Epoxydase. *Gene Expression During Fruit Ripening*. (PGR00-004) *Plant Physiol.* 122: 291

3.7.1.3. Publication dans revue internationale/nationale sans comité de lecture (4)

1. Rinaldo D., Mbéguié-A-Mbéguié D., Fils-Lycaon B. Antioxidant activity of tropical fruits as related to their polyphenol, vitamin C and carotenoid contents : a review. *Acta Hort* (accepté sous réserve de révisions mineures).
2. Hubert O., Mbéguié-A-Mbéguié D. 2012. Expression patterns of ethylene biosynthesis genes from bananas during fruit ripening and in relationship with finger drop. *AoB PLANTS* 2012: pls041; doi:10.1093/aobpla/pls041
3. Bugaud C., Daribo M.O., Deverge E., Fils-Lycaon B., Mbéguié-A-Mbéguié D. 2012. Chemical predictors of sweetness and sourness in banana. *Acta hort* (ISHS) 928:211-215. http://www.actahort.org/books/928/928_26.htm
4. Hubert, O., Chillet, M., Juliannus, P., Fils-Lycaon, B. and Mbéguié-A-Mbéguié, D. 2010. Effect of mode of ripening on ethylene biosynthesis during ripening of diploid banana (*Musa* SPP) fruit. *Acta Hort.* (ISHS) 879:385-392. http://www.actahort.org/books/879/879_41.htm

3.7.1.4. Ouvrages ou chapitres d'ouvrage (6)

1. Mbéguié-A-Mbéguié D., Hubert O., Chillet M., Fils-Lycaon B. 2007. Cloning and differential expression of banana genes coding for EIN3-like proteins involved in ethylene action. In: A. Ramina, C. Chang, J. Giovannoni, H. Klee, P. Perata and E. Voltering (eds), *Advances in Plant Ethylene Research: proceedings of the 7th international Symposium on the Plant Hormone Ethylene*, Springer, pp27-30. ISBN 978-1-4020-6013-7.
2. Mbéguié-A-Mbéguié D., Gouble B., Gomez R.M., Audergon J.M., Albagnac G., Fils-Lycaon B.R. (2003). Identification of ACC oxydase and ACC synthase genes involved in autocatalytic ethylene biosynthesis of Apricot fruit. In: M. Vendrell, H. Klee, J.C. Pech, F. Romojaro (eds). *Biology and Biotechnology of the Plant Hormone Ethylene III*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 243-245. ISBN : 1566-7693
3. Audergon J.M., Gouble B., Bureau S., Chahine H., Mbéguié-A-Mbéguié D., Fils-Lycaon B.R., Reich M., Giard A., Albagnac G., (2003). Inheritance of fruit quality traits in an apricot progeny. Influence of ethylene. In: M. Vendrell, H. Klee, J.C. Pech, F. Romojaro (eds). *Biology and Biotechnology of the Plant Hormone Ethylene III*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 259-260 ISBN : 1566-7693
4. Gouble B., Mbéguié-A-Mbéguié D., Reich M., Audergon J.M., Varoquaux P., Albagnac G. (2003). Inhibition of apricot ethylene biosynthesis by CO₂. In: M. Vendrell, H. Klee, J.C. Pech, F. Romojaro (eds). *Biology and Biotechnology of the Plant Hormone Ethylene III*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp 378-379. ISBN: 1566-7693
5. Fils-Lycaon B., Mbéguié-A-Mbéguié D., Galas C., Gomez R.M., Hubert O., Chillet M. (2001). Banana Quality: physico-chemical characterization, and transcriptome and proteome analysis of fruit during ripening. In E.B. Esguerra, M.V. Maunahan, O.K. Bautista (eds). In: *Proceedings of the 1st International Conférence in Postharvest Horticulture Conference*. Manille, Philippines, pp262. ISBN 971-547-205-2.

6. Mbéguié-A-Mbéguié D., Chahine H., Gomez R.M., Gouble B., Audergon J.M., Souty M., Albagnac G., Fils-Lycaon B. (1997). Cloning and expression of a cDNA encoding 1-aminocyclopropane-1- carboxylate (ACC) oxydase from apricot fruit. Poster *In* : JC Pech, A. Latché, M. Bouzayen (eds.), *3ème Colloque de la Société Française de Physiologie Végétale*. SFPV, Paris, pp 162-163, ISBN: 2-9508596-1-5

3.7.1.5. Actes de congrès (2)

1. Abadie C., Hubert O., Ngando Essoh J., Ngoh G., Mbéguié-A-Mbéguié D., de Lapeyre de Bellaire L., Chillet M. 2008. Evidence of the effects of *Mycosphaerella* leaf spot diseases on fruit quality. In : J.S. Borja ; C. Nogales ; C. Orrantia ; R. Paladines ; V. Quimi and L. Tazan (eds.). *Memories of XVIII ACORBAT meeting, 10-14 November 2008, Guayaquil, Ecuador*. s.l. : s.n., [8] p.. International Meeting ACORBAT 2008. 18, 2008-11-10/2008-11-14, Guayaquil, Equateur.
2. Musagenomics: Creation of a BAC-based platform for banana genomics Poster abstract S04-16. Piffanelli P., Dolezel J., Sabau X., Vilarinhos A., Souza M., Ciampi A., Noa-Carranza J.C., Safar J., Town C., Mbéguié-A-Mbéguié D., D'Hont A., Chalhoub B., Careel F., Lagoda P., Côte F., Glaszmann J.C., Frison E.A., 2003. In : *7th International Congress of Plant Molecular Biology, 23-28 June 2003, Barcelona, Spain : Book of abstracts*. n.p. International Congress Of Plant Molecular Biology. 7, 2003/06/23-28, Barcelone, Espagne.

3.7.2. Communication dans des congrès et colloques avec/ou sans comité de lecture international (24)

3.7.2.1. Communications orales (8)

1. Rinaldo D., Mbéguié-A-Mbéguié D., Fils-Lycaon B. 2009. Antioxidant activity of sub-tropical and tropical fruits as related to their polyphenol, vitamin C and carotenoid contents: a review. The 3rd International Symposium on Human Health Effects of fruits and Vegetables. Avignon, October 18-21, France.
2. Mbéguié-A-Mbéguié D., Hubert O., Baurens F.C., Sabau X., Sidibé-Bocs S. Chillet M., Fils-Lycaon B. 2009. Molecular physiology studies of banana fruit ripening : Identification of candidate genes for improvement of fruit quality traits throughout breeding. (lecture). The 1st Postharvest and Quality management of Hortical products of Interest for tropical regions. San José 20-24 July, Costa Rica
3. Baurens F.-C., Sidibé-Bocs S., Rouard M., Matsumoto T., Miller RNG, Rodier-Goud M., Mbéguié-A-Mbéguié D. and Yahiaoui N. 2009. Mechanisms of haplotype divergence at the RGA08 NBS-LRR locus in wild banana (*Musa Balbisiana*). The 8th Plant genomics European Meetings. Lisbon, October 07-10, Portugal.
4. Hubert O., Chillet M., Julianus P., Fils-Lycaon B., Mbéguié-A-Mbéguié D. 2008. Effect of mode of ripening on ethylene biosynthesis during ripening of diploid banana fruit. International Conference on Banana and Plantains in Africa: harnessing International partnership to increase research impact. Mombassa, October 5-9, Kenya.
5. Mbéguié-A-Mbéguié D., 2008. Molecular physiology of banana fruit ripening: Improvement of fruit quality traits. VIII Symposium of Plant biotechnology. Villa Clara, April 23-25, Cuba.
6. Fils-Lycaon B., Galas C., Hubert O., Julian J., Julianus P., Mbéguié-A-Mbéguié D., Rinaldo D., Saint-Marc M.-L. 2006. Physiologie moléculaire de la maturation de la banane et qualité du fruit. Rencontre sur les fruits charnus. Toulouse Castanet-Tolosan, 4-6 Avril. France
7. Mbéguié-A-Mbéguié D., Chillet M., Fils-Lycaon B., Hubert O., Gallas C., Gomez R.M. (2002). Molecular cloning and characterization of banana ripening-related genes. 3rd International Symposium on the Molecular and Cellular Biology of bananas. Leuven, September 09-11, Belgium.
8. Dorel M., Cattani P., Risède J.-M., Jenny C., Mbéguié-A-Mbéguié D., De Lapeyre L., Chillet M., Lakhia S. (2001). Amélioration de la qualité de la banane d'exportation. In : Sécurité sanitaire, sûreté alimentaire et qualité des productions et produits animaux et végétaux dans la Caraïbe, 26 - 29 novembre 2001, Go. - Montpellier : CIRAD

3.7.2.2. Communications par voie d'affiches (16)

1. Hubert O., Mbéguié-A-Mbéguié D. 2012. Expression patterns of ethylene biosynthesis genes from banana during fruit ripening and in relationship with finger drop. Poster. The 9th International Symposium on the Plant Hormone Ethylene. Rotorua convention Centre, Rotorua, March 19-23, New Zealand.
2. Bugaud C., Deverge E., Daribo M.O., Fils-Lycaon B., Mbéguié-A-Mbéguié D., 2010. Predicting sweet and sour taste in banana using physicochemical indicators. 28th Int. Hort. Congress, 22-27 August, Lisboa.
3. Mbéguié-A-Mbéguié D., Hubert O., Fils-Lycaon B., Chillet M., Baurens F.-C. 2009. Transcriptional regulation of Banana EIN3-like genes: correlation with ethylene fruit responsiveness and ripening processes. The 8th International Symposium on the Plant Hormone Ethylene. Cornell University, Ithaca, New York, June 21-25, USA.
4. Mbéguié-A-Mbéguié D., Hubert O., Baurens F.C., Matsumoto T., Chillet M., Fils-Lycaon B., Sidibé-Bocs S. 2009. Cell Wall Modifying Gene expression during banana fruit ripening and in relationship with finger drop. The 6th International Postharvest Symposium. Antalya, April 8-12, Turkey.
5. Fils-Lycaon B., Beuve G., Julianus P., Hubert O., Galas C., Chillet M., Mbéguié-A-Mbéguié D. 2008. Metabolism of soluble sugars in 4 varieties of banana, and activity of associated enzymes. International Conference on Banana and Plantains in Africa: harnessing International partnership to increase research impact. Mombassa, October 5-9, Kenya.
6. Julianus P., Hubert O., Chillet M., Fils-Lycaon B., Mbéguié-A-Mbéguié D., 2008. Evidence of acidic Invertase as control step of sucrose level during ripening of two diploid banana fruit. International Conference on Banana and plantains in Africa: harnessing International partnership to increase research impact. Mombassa, October 5-9, Kenya.

7. Mbéguié-A-Mbéguié D., Hubert O., Chillet M., Fils-Lycaon B., Gomez R.-M., Rinaldo D., Baurens F.-C. 2006. Cloning and characterization of ripening-related cDNAs from banana fruit: Functional genomic tools for molecular-mechanism studies of fruit-quality elaboration. Gordon Research Conference on Postharvest Physiology. Connecticut College, July 9-14, USA.
8. Mbéguié-A-Mbéguié D., Hubert O., Chillet M., Fils-Lycaon B., Baurens F.-C. Cloning and differential expression of banana genes encoding for EIN3-Like proteins. Nato advanced research workshop on Biology and Biotechnology of the Plant Hormone Ethylene. Pisa, June 18-22, Italy.
9. Gouble B., Mbéguié-A-Mbéguié D., Reich M., Audergon J.M., Varoquaux P., Albagnac G. (2002). Inhibition of apricot ethylene biosynthesis by CO₂. Nato advanced research workshop on Biology and Biotechnology of the Plant Hormone Ethylene. Murcia, April, Spain
10. Mbéguié-A-Mbéguié D., Gouble B., Gomez R.M., Audergon J.M., Albagnac G., Fils-Lycaon B.R. (2002). Cloning and characterization of a cDNA from Apricot fruit similar to Tomato E8 protein. Poster. Gordon Research Conference on Postharvest Physiology, Plymouth, august 08-17, USA.
11. Mbéguié-A-Mbéguié D., Gouble B., Gomez R.M., Audergon J.M., Albagnac G., Fils-Lycaon B.R. (2002). Identification of ACC oxydase and ACC synthase genes involved in autocatalytic ethylene biosynthesis of Apricot fruit. Nato advanced research workshop on Biology and Biotechnology of the Plant Hormone Ethylene. Murcia, April, Spain.
12. Fils-Lycaon B., Mbéguié-A-Mbéguié D., Galas C., Gomez R.M., Hubert O., Chillet M. (2001). Banana Quality: physico-chemical characterization, and transcriptome and proteome analysis of fruit during ripening. First international Conference in Postharvest Physiology, October 17-19, Manilla, Philippines.
13. Dorel M., Cattani P., Risède J.-M., Jenny C., Mbéguié-A-Mbéguié D., De Lapeyre L., Chillet M., Lakhia S. (2001). Amélioration de la qualité de la banane d'exportation. In : Sécurité sanitaire, sûreté alimentaire et qualité des productions et produits animaux et végétaux dans la Caraïbe, 26 - 29 novembre 2001, Go. - Montpellier : CIRAD
14. Chevallier T., De Rigal D., Mbéguié-A-Mbéguié D., Gauillard F., Forget-Richard F., Fils-Lycaon B. (1998). Molecular cloning and expression of a cDNA encoding polyphenol oxydase isolated from apricot fruit (*Prunus armeniaca* cv. bergeron). Gordon Research Conference, Postharvest Physiology, Plymouth, July 12-17, USA.
15. Mbéguié-A-Mbéguié D., Chahine H., Gomez R.M., Gouble B., Audergon J.M., Souty M., Albagnac G., Fils-Lycaon B. (1997). Cloning and expression of a cDNA encoding 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) oxydase from apricot fruit. 3^{ème} Colloque de la Société Française de Physiologie Végétale, Toulouse, december 1-3, France.
16. Mbéguié-A-Mbéguié D., Gomez R.M., Fils-Lycaon B. (1998). Cloning and characterization of cDNAs isolated from ripe apricot fruit (*Prunus armeniaca*). Journées doctoriales de nutrition, aspects cellulaires et moléculaires, Marseille, 26-27 Mai. Université d'Aix-Marseille III, faculté des Sciences et Technologies de Saint Jérôme. France

3.7.3. Rapports d'études, de missions, de bilans, d'analyses, d'expérimentations, documents d'animation (12)

1. Mbéguié-A-Mbéguié D. 2012. Compte rendu de mission de D. Mbéguié-A-Mbéguié Participation au 9^{ème} Conférence internationale sur l'hormone végétale éthylène 19-23 mars 2012 ROTORUA (Nouvelle-Zélande) 2p.
2. Mbéguié-A-Mbéguié D. Julianus P., Galas C., Hubert O., Bugaud C., Deverge E., Marie-Odet Daribo M.-O., Rinaldo D., Fils-Lycaon B. 2011. Etude de la biodiversité de la banane quant au métabolisme des sucres : Construction de la qualité organoleptique et nutritionnelle à travers la recherche de marqueurs moléculaires associés à la teneur en saccharose du fruit. Projet Hors PO Metasuc Région Guadeloupe 2010-2011. Rapport Final d'Exécution. 16 p.
3. Hubert O., Mbéguié-A-Mbéguié D. 2011. Qualité des Produits végétaux. Rapport Intermédiaire d'Exécution. Projet FEDER 2007-2013. 21p.
4. Hubert O., Mbéguié-A-Mbéguié D. 2010. Rapport technique sur la Maturation précoce chez la Jaffa. 5p. Guadeloupe. Mbéguié-A-Mbéguié D. 2009. Compte rendu de mission de D. Mbéguié-A-Mbéguié. Participation aux symposium Ethylene (Ithaca USA, Juin 2009), Postharvest Symposium (San José, juillet 2009), Postharvest Symposium (Antalya avril 2009). 4 p.
5. Hubert O., Mbéguié-A-Mbéguié D. 2009. Qualité des Produits végétaux. Rapport Intermédiaire d'exécution. Projet FEDER 2007-2013. 9p.
6. Mbéguié-A-Mbéguié D., 2008. Rapport de mission « participation au VIII symposium en biotechnologie végétale ». 3p.
7. Mbéguié-A-Mbéguié D. 2008. Compte rendu de mission de D. Mbéguié-A-Mbéguié. Participation au symposium Banana and Plantain in Africa: Harnessing international partnership to increase research impact. Leisure Lodge Resort, MOMBASSA, Kenya, 5-9 Octobre 2008.
8. Mbéguié-A-Mbéguié D., 2006. Rapport de mission « participation aux symposiums ETHYLENE et Physiologie Postrécolte ». 3p.
9. Rinaldo D., Fils-Lycaon B., Mbéguié-A-Mbéguié D., 2005. Présentation orale et écrite du programme scientifique de l'équipe « Elaboration de la qualité, physiologie de la maturation » de l'UMR QUALITROP à l'équipe « Systèmes Supramoléculaires Impliquant les Polyphénols » de l'UMR Sciences Pour l'Oenologie, INRA Montpellier.
10. Fils-Lycaon B., Rinaldo D., Chillet M., Mbéguié-A-Mbéguié D., 2005. Présentation orale et écrite du sous-programme scientifique « Elaboration de la qualité, physiologie de la maturation » du projet d'UMR « QUALITROP » au Chef de Département Adjoint de CEPIA.
11. Aurore G., Bercion S., Bravo R., Chillet M., Fharasmane L., Fils-Lycaon B., Levalois L., Mbéguié-A-Mbéguié D., Parfait A., Rinaldo D., Sylvestre M., Udino L., 2004. Partie scientifique du document projet d'UMR « QUALITROP » entre l'INRA, le CIRAD et l'Université Antilles-Guyane. 35 p.
12. Fils-Lycaon B., Mbéguié-A-Mbéguié D., Chillet M., Gomez R.M. Hubert O., Gallas C., Julianus P (2002). Rapport final contrat PHYMOBAN (fond commun INRA-CIRAD 1999 projet n°5) 8p.
13. Genart M., Albagnac G., Amiot-Carlin M. J., Audergon J.-M., Chou C., Bureau S., Bussy C., Chahine H., Frossard J. S., Gaudilaire J. P., Gomez L., Gouble B., Hugues M., Huguet J., G., Just D., Legave J., M., Lescouret S., Lobit P., Mbéguié-A-Mbéguié D., Moing A.,

- Monet R., Reich M., Rolin D., Rothan C., Souty M. (1999). Elaboration de la qualité organoleptique des fruits à noyau : facteurs génétiques, physiologiques et agronomiques. 1999. In : Albagnac G., Colonna P., Doussinault G., Habib R : AIP-AGRAF pour l'élaboration de la composition et de l'aptitude à l'utilisation des grains et des fruits. INRA, Paris (FRA). 1996-1999. 117-137. (INRA Eds). Paris. France
14. Fils-Lycaon B., Mbéguié-A-Mbéguié D. (1997). Recherche de marqueurs moléculaires de l'abricot (*Prunus armeniaca*). AIP-AGRAF pour l'élaboration de la composition et de l'aptitude à l'utilisation des grains et des fruits. Rapport annuel d'activité, 3p.

3.8. Réalisations organisationnelles

3.8.2. Animation et/ou participation à des réseaux scientifiques

- Participation au réseau national « maturation des fruits Charnus »
- Participation à la création du groupe de travail « Physiologie moléculaire de la maturation » au sein du CIRAD
- Responsable du volet transcriptomique du projet scientifique de l'UMR QUALITROP 2006-2009

3.8.3. Administration de la recherche - Résultats financiers liés à l'activité

Projet DEBA (coordination)

“Contribution à la compréhension des mécanismes physiologiques associés au dégrain”

Coût global : 417,7K€ - Bailleur : ANR - Statut : Refusé

Projet MusaTract-Séquençage du génome du Bananier (partenaire):

“Adding a tractable monocot genome for comparative genomics and sustainable agriculture”

Coût global : 1632,9 K€ - Financement obtenu (salaire non inclus) : 8 k€ - Durée : 2009-2010 - Bailleur : ANR

Statut : Achevé

Projet INVERTASE (coordination)

“Etude de la biodiversité de la banane quant au métabolisme des sucres : Construction de la qualité organoleptique et nutritionnelle à travers la recherche de marqueurs moléculaires associés à la teneur en saccharose du fruit”.

Coût global: 56,580 K€ - Financement obtenu: 47,7k€ Durée : 2009-2011 - Bailleur : Région Guadeloupe

Statut : Achevé

Projet QUALITE DES FRUITS (partenaire)

“Caractérisation de la qualité des fruits et légumes tropicaux en relation avec leur génome, leur développement et/ou leur maturation, leur traitement post-récolte. Valorisations de molécules à activité anti-oxydante. Déterminisme génétique de l'élaboration de la qualité en frais”

Coût global (personnel inclus): 625,4K€

Financement obtenu (salaire inclus): 437 k€ - Durée : 2008-2013 - Bailleur : FEDER (fonds de développement régional européen)/ Programme de convergence Guadeloupe : 2008-2013

3.8.4. Responsabilités diverses

- Responsabilité de la gestion du laboratoire de caractérisation physico-chimique et de l'atelier de mûrissage des fruits
- Coresponsabilité dans la gestion du laboratoire de biologie moléculaire de Neufchâteau et du laboratoire de radioéléments du CIRAD-FLHOR à Neufchâteau en ma qualité de personne radio compétente de 2001 à 2011.
- Membre de la commission CORPAQ (commission régionale des produits alimentaires de qualité) sur proposition du directeur régional du CIRAD aux Antilles
- Membre du comité de sélection pour le recrutement au poste de maître de conférence N°0624 Hygiène Santé Environnement de l'IUT de Kourou sur le pôle Martinique

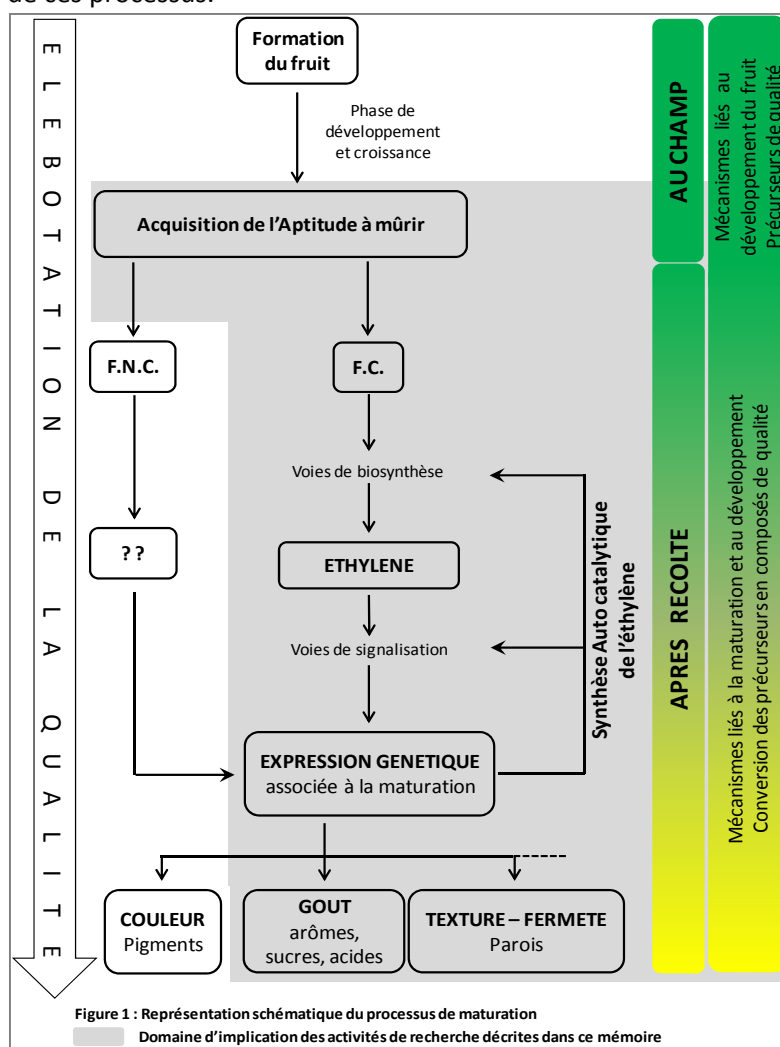
4. Synthèse des travaux scientifiques

Mes travaux de recherche ont toujours porté sur la maturation des fruits. La qualité du fruit résulte des modifications biochimiques (dégagement gazeux, ramollissement du fruit, changement de couleur, acquisition d'arôme et de saveur, etc.). Ces modifications découlent des voies métaboliques mises en place suite à des changements d'expressions géniques dont certaines sont initiées durant la phase de développement du fruit au champ la maturation (**Figure 1**). Chez les fruits climactériques, l'éthylène occupe une place centrale dans l'initiation et le contrôle d'un grand nombre de ces processus.

A partir du milieu des années 1980, le développement spectaculaire des techniques de biologie cellulaire et moléculaire a permis des avancées majeures dans le domaine des sciences du vivant dont celui de la maturation des fruits. Elles ont permis par exemple d'isoler et de caractériser les gènes associés à la maturation du fruit. Le développement des techniques de culture *in vitro* de tissus végétaux a également conduit à l'élaboration de nouvelles méthodes d'études, basées sur la transgénèse, et permis des avancées majeures dans l'étude du fonctionnement des gènes et de leur impact dans le processus de maturation des fruits. Parallèlement, le développement d'outils de séquençage et d'analyse d'expression génique à grande échelle a pour sa part ouvert des voies d'accès aux séquences complètes du génome de certaines espèces fruits et plus particulièrement aux gènes différentiellement exprimés au cours de leur maturation.

Leur décryptage nous autorise aujourd'hui à aborder les mécanismes d'élaboration de la qualité des fruits sous un angle nouveau et plus global au moyen d'approches intégrées de type « omiques » (transcriptomique, protéomique, métabolomique) de génétique et de génie-génétique. C'est dans ce contexte scientifique fécond que s'inscrivent les travaux de recherches décrits dans ce mémoire. Ils ont été réalisés successivement à la station de technologie de produits végétaux de l'INRA d'Avignon d'octobre 1995 à Avril 2000, dans le cadre de ma formation doctorale, puis à la station de Neufchâteau du CIRAD Guadeloupe, d'abord comme post-doctorant (juillet 2000 - janvier 2001) puis comme chercheur permanent du CIRAD (depuis février 2001).

Ce parcours géographiquement éclectique en terme d'objets d'études reste néanmoins cohérent sur le plan scientifique. En effet, l'abricot et la banane sont, l'un comme l'autre, des fruits climactériques, l'un est une drupe ou fruit à noyau produit des régions tempérées et l'autre une baie (fruit à graine et parthénocarpique). Il s'agit donc d'une forme de continuité scientifique mais aussi d'originalité dans la mesure où le processus de maturation de ces deux fruits était très peu étudié au moment où nos travaux ont été initiés. La banane présente en plus l'originalité d'être un fruit dont les tissus de peau et de pulpe sont anatomiquement et physiologiquement différents. En effet, la peau qui peut constituer jusqu'à 20% du poids frais (Palmer 1971) développerait un processus de maturation de type climactérique et différent de celui de la pulpe qui serait



non climactérique (Dominguez et Vendrell, 1993 ; Inaba et al., 2007). Ce qui fait de ce fruit un modèle potentiellement intéressant pour aborder les mécanismes impliqués dans ces deux types de processus de maturation ainsi que leurs possibles interactions.

Mes travaux de recherche ont consisté dans un premier temps à développer des outils de génomiques fonctionnels. A partir de ces outils, indépendamment des objets et à des degrés divers, j'ai abordé dans un second temps les mécanismes physiologiques associés à la maturation et relatifs à :

- L'éthylène (voies de biosynthèse et de signalisation),
- Le métabolisme des parois
- Le métabolisme des sucres
- Le métabolisme secondaire

4.7. Obtention des ressources de génomique fonctionnelle

La qualité du fruit est un caractère complexe qui dépend du patrimoine génétique de la plante, de sa physiologie et de l'environnement dans lequel évolue le fruit (conditions de production au champ, processus de maturation et conditions de stockage après récolte etc).

L'élaboration de la qualité met en jeu de nombreuses composantes aux effets parfois antagonistes. Elle résulte en général de l'action conjointe de plusieurs gènes régulateurs d'une cascade de voies métaboliques. De ce fait, l'acquisition de connaissances sur les déterminismes géniques associés à la qualité du fruit (voies métaboliques clé, structure et expression des gènes régulateurs majeurs) est importante pour l'amélioration génétique et les stratégies de création / sélection variétale. Elle doit aboutir à la gestion plus ou moins précoce des critères de qualité d'intérêt. En effet, si l'importance du déterminisme génique est liée à sa structure, son utilisation comme marqueur pourrait déboucher sur des méthodes rapides de tri de géniteurs performants et/ou d'hybrides issus des schémas de croisements. Si l'importance de ce déterminisme est liée à la régulation de son expression par des facteurs environnementaux, cette expression pourra être maîtrisée par les moyens technologiques (conditions de transports, traitement post-récoltes, pratiques culturales etc.) et/ou génie-génétique afin de gérer et/ou améliorer, après récolte, les critères de qualité.

Un des préalables à l'acquisition des connaissances sur les déterminismes génétiques est la disponibilité des ressources de génomique fonctionnelle (géniques et/ou biochimiques) du fruit et potentiellement associées à l'élaboration de sa qualité. Elle a par conséquent constitué le premier axe des activités de recherche que j'ai menées chez l'abricot et la banane.

4.7.2. L'abricot

Le développement d'outils de génomique fonctionnelle de l'abricot a été initié dès 1995 pendant mon année de DEA sous l'encadrement de Dr B. FILS-LYCAON et poursuivi pendant ma formation doctorale. J'ai construit deux banques d'ADNc de fruit (vert et mi-mûr) et participé à la construction d'une troisième banque de fruit mûr. Couplée à une approche ciblée d'obtention de gènes par des méthodes d'amplification d'ADN in vitro (RT-PCR, RACE-PCR), ces banques ont servi de source de gènes au programme de séquençage systématique réalisé à petite échelle durant ma thèse.

Au total, 45 gènes différentiellement exprimés dans le fruit ont été isolés. Ces gènes ont été séquencés et enregistrés dans la banque de données internationale GenBank (**annexe 1**). Certains de ces gènes codent des protéines de structure impliquées dans la machinerie cellulaire ou encore des enzymes associées aux métabolismes présentant un intérêt limité par rapport au processus de la maturation. En revanche, d'autres gènes ont présenté un intérêt par rapport à la qualité du fruit car codant des protéines impliquées dans la biosynthèse de l'éthylène, l'hormone de la maturation (3 gènes d'ACC synthase *PA-ACS1*, 2 et 3, un gène d'ACC oxydase *PaACO*, un gène *p69RF* codant pour une protéine, homologue à E8), le métabolisme des parois associé à la perte de fermeté (1 gène de pectinéméthylesterase, *PaPME*, un gène de bêta-galactosidase *PaβGAL* et deux gènes d'expansines *PaEXP1* et 2) et dans le métabolisme secondaire crédités de propriétés nutritionnelles (1 gène de polyphénol oxydase *PaPPO* et 2 gènes Zéaxanthin époxydase *PaZE1* et 2).

4.7.3. La banane

Afin de mieux prendre en compte la qualité du fruit dans les programmes d'amélioration variétale du bananier, le CIRAD Guadeloupe a initié au début des années 2000 et en collaboration avec l'INRA, les activités

sur la physiologie moléculaire de la maturation de la banane. Ces activités ont démarré avec le projet PHYMOBAN (physiologie moléculaire de la banane) soutenu par le fond commun INRA-CIRAD (ancien département FLHOR programme Bananier-Plantain-Ananas). J'ai intégré ce projet comme post-doctorant pendant 6 mois en charge du volet génomique fonctionnel, les volets biochimique et physico-chimique du projet étant sous la responsabilité respective de B. FILS-LYCAON (chercheur INRA et chef du projet) et M. CHILLET (chercheur CIRAD).

La disponibilité des ARN totaux en quantité et en qualité étant un préalable à l'aboutissement de cet objectif, j'ai participé dans un premier temps à l'optimisation chez la banane, une méthode d'extraction d'ARN totaux (Mbéguié-A-Mbéguié et al., 2008a). A partir de ces ARN totaux, 4 banques d'ADNc complémentaires de fruits pris à différents stades de développement et, en collaboration avec les collègues du Cirad de Montpellier (ex-département AMIS), 4 autres banques soustractives ont été construites. Leur séquençage partiel a permis d'identifier des ADNc codant pour des protéines impliquées dans divers métabolismes plus ou moins associés à la qualité du fruit (Mbéguié-A-Mbéguié et al., 2007). Recruté au CIRAD comme chercheur permanent en 2001, j'ai poursuivi mes travaux sur l'obtention, à petite échelle, des ressources de génomique fonctionnelle. Afin d'obtenir les séquences ADN de certains gènes d'intérêt, l'approche « criblage de banque BAC » en collaboration avec le CIRAD Montpellier (UMR AGAP/Equipe SEG) et d'amplification d'ADN in vitro (Genome Walking) ont également été développées. Ces séquences ont été enregistrées dans la banque de données publique Genbank (**annexe 1**).

Publications :

Mbéguié-A-Mbéguié D et al. 2003. Extraction and purification of total RNA from peel and pulp of banana fruit (small scale). *Fruits* 63 : 179–181.

Mbéguié-A-Mbéguié D. et al., 2007. Use of Suppression Subtractive Hybridization approach to identify genes differentially expressed during early banana fruit development undergoing changes in ethylene responsiveness. *Plant Science* 172: 1025-1036.

4.8. Mécanismes physiologiques de la maturation du fruit

4.8.2. La biosynthèse de l'éthylène de maturation

Le rôle de l'éthylène dans le développement des plantes et plus particulièrement dans la maturation du fruit est aujourd'hui clairement établi. Chez les fruits, la maturation s'accompagne de nombreuses modifications physico-chimiques incluant une forte activité respiratoire, la perte de fermeté et le changement de couleur. Ces modifications macroscopiques sont les reflets d'événements biochimiques et moléculaires qui pour certains sont spécifiquement mis en place au cours de la maturation. Suite aux progrès réalisés dans le domaine de la physiologie de la maturation du fruit, il est aujourd'hui admis que, chez les fruits climactériques dont font partie la banane et l'abricot, l'éthylène y joue un rôle prépondérant en initiant et contrôlant nombre de ces événements. Pour toutes ces raisons, l'éthylène a fait l'objet de nombreuses études aux objectifs divers et variés : la biosynthèse et son mode d'action (Lelièvre et al., 1997; Cara et Giovanonni 2008 ; Yokotani et al., 2009; Lin et al., 2009 ; Liu et al., 1999), contrôle post-récolte de la maturation globale du fruit via l'inhibition de la biosynthèse de l'éthylène par génie génétique et/ou traitement technologique post-récolte (inhibiteur d'éthylène, atmosphère contrôlée, etc. (Oeller et al., 1991 ; Picton et al., 1993 ; Klee et al., 1991 ; Ayub et al., 1996 ; Kader et al., 2002 ; Dandakar et al., 2004 ; Jonhston et al., 2009). Toutes ses raisons justifient l'intérêt qui a été porté à l'éthylène dans le cadre de mes travaux de recherche sur la maturation de l'abricot et de la banane.

4.8.2.1. L'abricot

Au moment où ce travail a été initié, on ne savait que peu de chose sur les mécanismes moléculaires qui gouvernent la biosynthèse de l'éthylène chez l'abricot en particulier et les fruits à noyau en général. L'isolement chez l'abricot des gènes d'ACC synthase (*PaACS1*, *PaACS2* et *PaACS3*) et l'ACC oxydase (*PaACO1*), les deux enzymes clé de la voie de biosynthèse de l'éthylène, m'a permis d'aborder le mécanisme de biosynthèse de cette hormone au cours de la maturation du fruit.

Chez l'abricot, la biosynthèse de l'éthylène s'accompagne d'une expression différentielle des gènes d'ACC synthase et d'ACC oxydase entre les phases préclimactérique et climactérique de la maturation du fruit. Dans nos conditions expérimentales, aucun messenger *PaACS3* n'a été détecté chez les deux variétés alors que les messagers *PaACS1* et *PaACO1* ont été détectés chez les deux variétés et ceux de *PaACS2* ne l'ont été que chez Monique (**figure 2**).

Par rapport au dégagement éthylénique, la dynamique d'expression des gènes *PaACS1*, *PaACS2* et *PaACO1* chez la variété Monique a suggéré que, l'expression des gènes *PaACS1* et *PaACO1* est associée à la faible émission de l'éthylène observée pendant les premières phases du développement du fruit (phase préclimactérique). L'acquisition par le fruit de l'aptitude à mûrir de manière autonome s'accompagne d'une induction du gène *PaACS1*. Durant la phase climactérique, l'éthylène « prend en main » le contrôle de sa propre synthèse. Il s'en suit une induction du gène *PaACO1* et dans les phases tardives de la maturation de celle du gène *PaACS2*. Ceci a pour conséquence une forte émission autocatalytique d'éthylène, caractéristique majeure des fruits climactériques dont fait partie l'abricot. L'implication stricte des gènes *PaACS2* et *PaACO1* dans la synthèse autocatalytique de l'éthylène de la maturation a par la suite été confirmée chez les fruits de la variété Monique traités au 1-MCP, un inhibiteur de l'éthylène (figure 3). En revanche, l'expression du gène *PaACS1* induite concomitamment à l'entrée du fruit en phase climactérique, n'a pas été totalement inhibée par le 1-MCP. Ce qui suggère que l'éthylène n'est pas l'unique facteur régulateur de l'expression de ce gène dont l'induction semble cependant nécessaire à l'entrée du fruit en phase climactérique.

Dans nos conditions expérimentales, et contrairement à ce qui a été observé chez la variété Monique qui produit plus d'éthylène, l'expression du gène *PaACS2* n'a pas été détectée chez la variété Bergeron alors que celle du gène *PaACO1* y est plus faiblement exprimée. Compte tenu du rôle limitant de l'activité ACC synthase dans le schéma de biosynthèse de l'éthylène, il nous est apparu concevable de penser que la différence d'expression des gènes *PaACS2* et *PaACO1* était un des éléments d'explication de la différence de production d'éthylène observée entre ces deux variétés. Dans l'ensemble, ces résultats préliminaires ont fortement suggéré une similarité entre le mécanisme de biosynthèse de l'éthylène décrit chez la tomate, un fruit à pépin et celui de l'abricot un fruit à noyau (Figure 4 ; Mbéguié-A-Mbéguié, 2000).

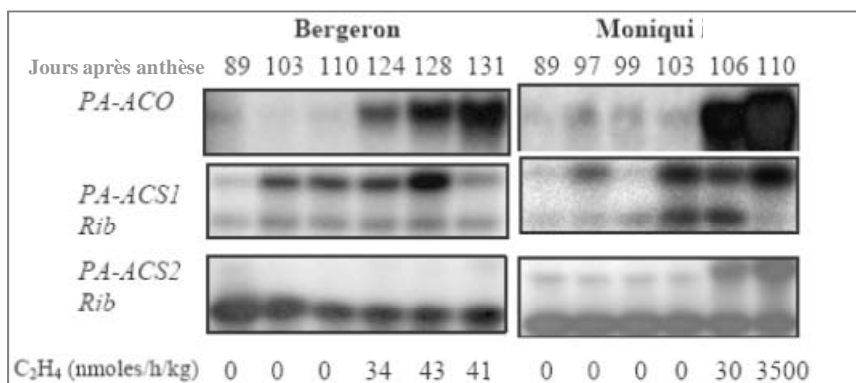


Figure 2 : Expression des gènes d'ACC oxidase (*PaACO*) et d'ACC synthase (*PaACS1* et *PaACS2*) pendant la maturation, sur l'arbre, des fruits d'abricot Bergeron et Monique

L'expression des gènes a été examinée par hybridation d'ARN totaux pour le gène *PaACO* selon le protocole décrit par Mbéguié-A-Mbéguié (2000). Celle des gènes d'ACC synthase a été réalisée par amplification simultanée des gènes *PaCAS1* et ribosomique d'une part et, *PaACS2* et ribosomique d'autre part suivi de l'hybridation des amplicons obtenus au moyen des sondes spécifiques *PaCAS1*, *PaACS2* et ribosomique obtenus, selon le protocole décrit par Mbéguié-A-Mbéguié (2003). Les stades de développement du fruit sont indiqués en nombre de jours après anthesis. Les chiffres indiqués en bas des autoradiographies correspondent à la quantité d'éthylène émise par les fruits.

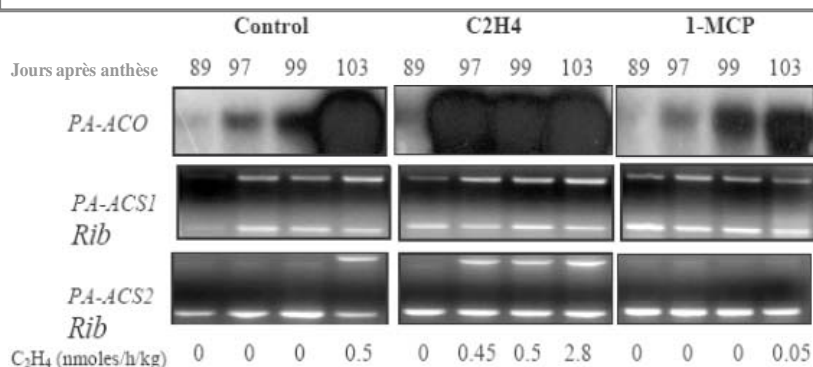
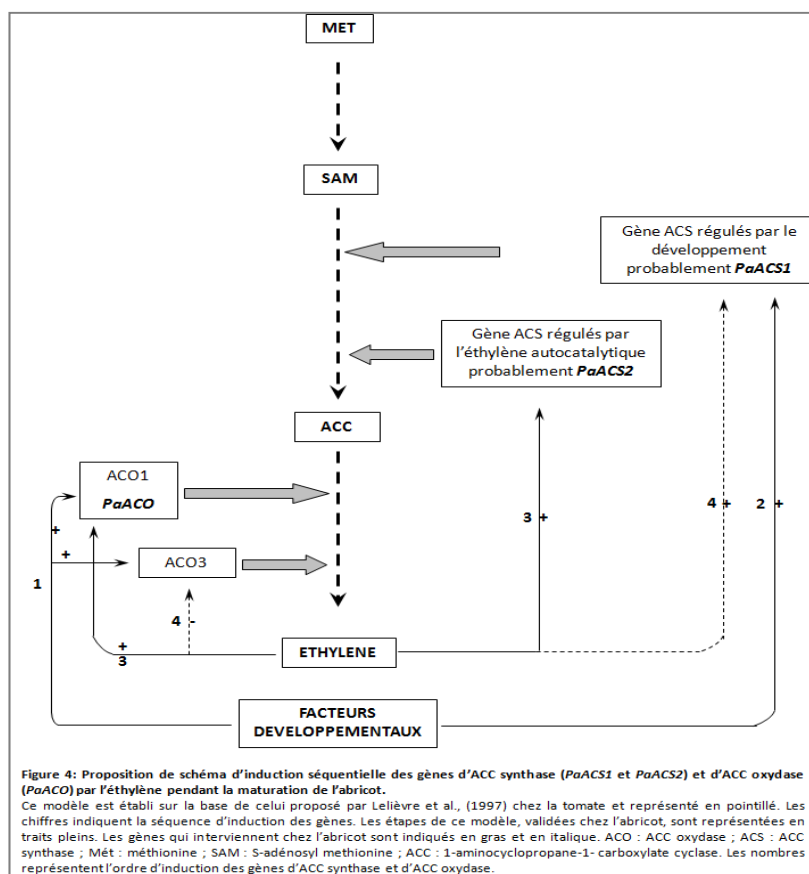


Figure 3: Effet de l'éthylène et du 1-MCP sur l'expression des gènes d'ACC oxidase (*PaACO*) d'ACC synthase (*PaACS1* et *PaACS2*) et chez la variété Monique.

Les fruits récoltés à 4 stades de développement ont été traités en continu au 1-MCP (plus 1ppm) et à l'éthylène (environ 20 ppm) pendant 48 heures. Au terme des traitements, les fruits ont mûri à l'air et leur ARN totaux extraits 7 jours après pour les fruits récoltés 89 et 97 JAA (jours après anthesis), 5 et 2 jours après respectivement pour les fruits récoltés 99 et 103 JAA. Comme témoin (control), les fruits ont été laissés pendant le même laps de temps à l'air. Les chiffres indiqués en bas des autoradiographies correspondent à la quantité d'éthylène émise par les fruits.

L'expression des gènes a ensuite été examinée par hybridation d'ARN totaux pour le gène *PaACO* selon le protocole décrit par Mbéguié-A-Mbéguié (2000). Celle des gènes d'ACC synthase a été réalisée par amplification simultanée des gènes *PaCAS1* et ribosomique d'une part et, *PaACS2* et ribosomique d'autre part au moyen des amorces spécifiques correspondantes et selon le protocole décrit par Mbéguié-A-Mbéguié (2000).

Un autre gène potentiellement associé à la biosynthèse de l'éthylène le gène p69RF a été isolé au cours de ces travaux. Il code une dioxygénase homologue à la protéine E8 dont le rôle dans la régulation négative de la biosynthèse de l'éthylène par auto inhibition a été démontré chez la tomate (Penarrubia et al., 1992 ; Kneissl et Deikman, 1996). Caractérisée chez les deux variétés, l'expression du gène ne présentait aucune évolution significative au cours du développement et de la maturation de chacune des deux variétés. En revanche, la comparaison intervariétale a montré que le gène p69RF s'exprime plus fortement chez la variété Bergeron qui produit moins d'éthylène que chez la variété Monique qui en produit plus. Cette donnée va dans le sens de l'implication du produit du gène p69RF dans le rétrocontrôle négatif de la biosynthèse de l'éthylène.



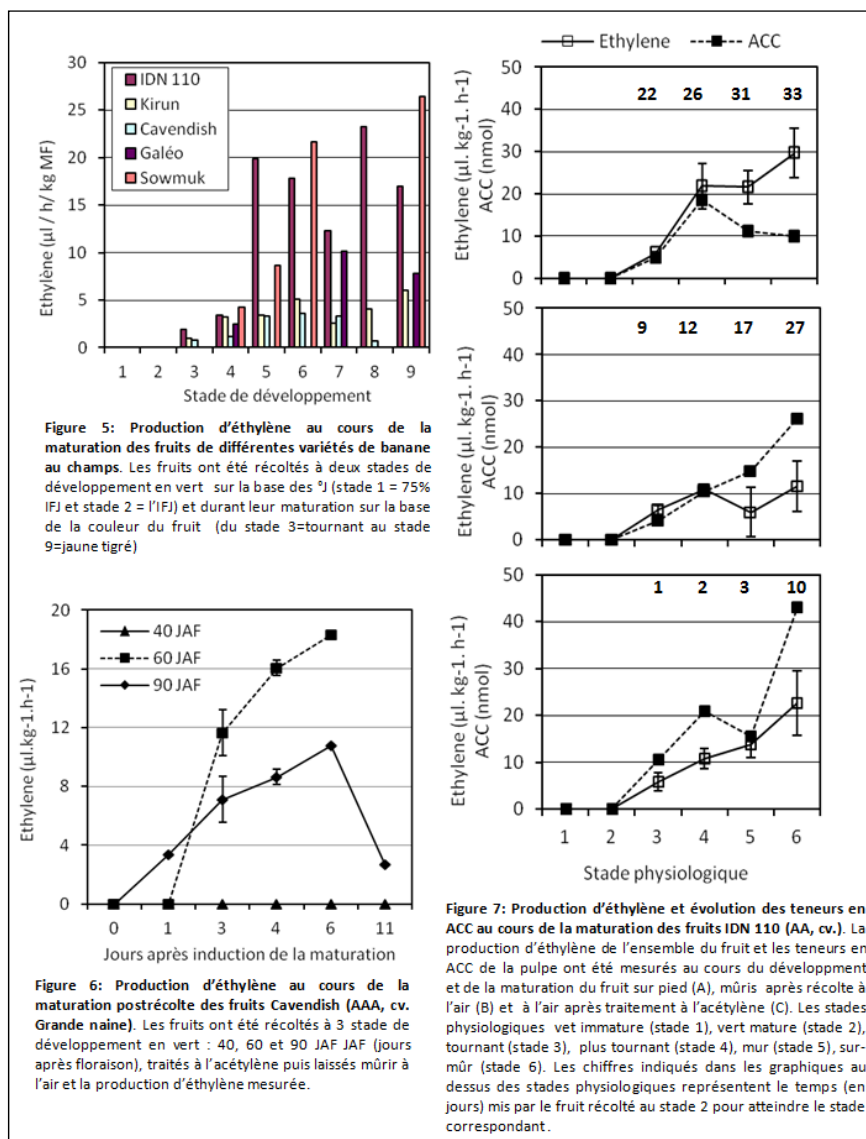
Publications :

- Mbéguié-A-Mbéguié D. et al., 2003. Identification of ACC oxydase and ACC synthase genes involved in autocatalytic ethylene biosynthesis of Apricot fruit. In: M. Vendrell, H. Klee, J.C. Pech, F. Romojaro (eds). *Biology and Biotechnology of the Plant Hormone Ethylene III*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 243-245. ISBN : 1566-7693
- Mbéguié-A-Mbéguié D. et al., 1999. Molecular cloning and expression of a ADNc encoding 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) oxydase from apricot fruit (*Prunus armeniaca* cv. Bergeron). *Physiologia Plantarum* 105 : 294-303.
- Mbéguié-A-Mbéguié D. et al, 1997. Cloning and expression of a cDNA encoding 1-aminocyclopropane-1- carboxylate (ACC) oxydase from apricot fruit. Poster In : JC Pech, A. Latché, M. Bouzayen (eds.), 3ème Colloque de la Société Française de Physiologie Végétale. SFPV, Paris, pp 162-163, ISBN: 2-9508596-1-5

4.8.2.2. La banane

Les travaux sur la biosynthèse de l'éthylène couplé à ceux sur métabolisme du sucre, qui sera décrit plus loin, ont été le point de départ de mes activités de recherche sur la banane. Notre choix s'est porté sur ces deux voies métaboliques parce que la disponibilité des données bibliographiques, biochimique et moléculaire pour ces deux aspects d'une part et la facilité de mise en œuvre des méthodes d'autre part, nous permettaient alors d'être opérationnels le plus rapidement possible.

L'aspect éthylène a été abordé chez la banane à travers trois études. Dans la première étude nous avons examiné la relation entre le niveau de production d'éthylène et le paramètre IFC (intervalle de temps entre la floraison et la coupe). Pour ce faire, la production d'éthylène a été mesurée au cours du développement et de la maturation au champ des fruits issues de 4 variétés dont deux à IFJ longue Galéo (AA, cv., IFJ de 1680 °J) et IDN 110 (AA, cv., IFJ de 1600 °J), une à IFJ médiane Cavendish (AAA, cv., IFJ de 1350 °J) et deux à IFJ courte Sowmuk (AA, cv., IFJ de 800 °J) et Kirun (AA, cv., IFJ de 130 °J). Les résultats obtenus ont montré une augmentation progressive et continue de l'éthylène au cours de la maturation exceptée pour la variété Cavendish dont le profil a présenté une augmentation transitoire suivi d'une baisse dans les phases tardives de la maturation. Aucune corrélation n'a pu être mise en évidence entre le paramètre IFC et la quantité d'éthylène émise. En valeur moyenne, les fortes quantités d'éthylène détectables au cours de la maturation ont été observée chez IDN110 (IFC long, 12,55 $\mu\text{L.h}^{-1}.\text{kg}^{-1}$) et Sowmuk (IFC court ; 15,32 $\mu\text{L.h}^{-1}.\text{kg}^{-1}$), Cavendish (IFC médiane, 1,97 $\mu\text{L.h}^{-1}.\text{kg}^{-1}$), Kirun (IFC courte ; 3,52 $\mu\text{L.h}^{-1}.\text{kg}^{-1}$) et Galéo (IFC longue ; 6,29 $\mu\text{L.h}^{-1}.\text{kg}^{-1}$) produisant des quantités plus faibles (figure 5). Ces résultats indiquent que la durée de développement du fruit au champ estimée par le paramètre IFC n'impactait pas la quantité d'éthylène produite au cours de sa maturation.



Dans la deuxième étude, nous avons examiné chez la variété (IDN110, AA, cv.) l'impact des conditions de maturation du fruit (sur pied, après récolte à l'air ou après traitement à l'acétylène) sur la biosynthèse de l'éthylène. Les résultats obtenus ont mis en évidence une absence de corrélation directe entre la quantité d'éthylène produit et la vitesse de maturation du fruit. En effet à partir du stade vert mature, les fruits de la variété IDN110 mûris sur pied mettent 33 jours pour atteindre la sur maturité et dégage une quantité d'éthylène maximale de 29,6 $\mu\text{L.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$. Une fois récoltés, les fruits mûris à l'air et après traitement à l'acétylène (un analogue de l'éthylène) mettent respectivement 27 et 10 jours pour atteindre le stade de maturité avancée pour des quantités d'éthylène produites respectives de 11,5 et 22,6 $\mu\text{L.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$ (figure 6 ; Hubert *et al.*, 2011).

Aux niveaux moléculaire et biochimique, l'expression des gènes d'ACC synthase (*MaACS1*) et d'ACC oxydase (*MaACO1* et *MaACO2*), a été examinée et la teneur en ACC, précurseur de l'éthylène dosée. L'ACC synthase (ACS) et l'ACC Oxydase (ACO) sont les deux enzymes clé de la voie de biosynthèse de l'éthylène. L'ACS synthétise l'ACC précurseur immédiat, lequel est converti en éthylène sous l'action de l'ACO. Les résultats obtenus ont montré une corrélation entre l'accumulation des messagers *MaACS1* et *MaACO2*, les teneurs en

ACC dans la pulpe du fruit et l'éthylène, mais uniquement chez les fruits mûris après la récolte hors du pied. Ils mettent ainsi en avant le rôle des facteurs développementaux mis en place au champ dans la régulation de la teneur en ACC du fruit (Hubert *et al.*, 2011).

Dans la troisième étude menée sur la variété Cavendish (AAA, cv.), nous avons abordé l'aspect éthylène à travers ses voies de biosynthèse et de signalisation en liaison avec l'acquisition de l'aptitude à mûrir du fruit. La production d'éthylène a été suivie pendant la maturation post-récolte des bananes Cavendish récoltés à trois stades de développement en vert : immature (40 JAF (jour après floraison)), vert mature précoce (60 JAF), et vert mature tardif (90 JAF), période de transition durant laquelle le fruit acquiert progressivement la capacité à répondre à l'éthylène et à murir de manière autonome (Chillet 2006).

Les résultats obtenus ont montré que les fruits récoltés à 60 JAF produisaient plus d'éthylène ($18 \mu\text{l.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$) et en continue contrairement aux fruits récoltés à 90 JAF dont le profil plus classique présente un pic transitoire ($11 \mu\text{l.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$) au début de la maturation avant de décroître par la suite (**figure 7**). Alors qu'aucune trace d'éthylène n'a été détectée sur les fruits récoltés à 40 JAF, confirmant ainsi leur caractère vert immature.

Mise en commun, ces études indiquent que le profil de production d'éthylène au cours de la maturation de la banane varie en fonction de la variété et du stade de récolte. Cette observation a également été rapportée dans une récente étude menée chez 5 variétés de banane, certaines comme la Monthan (ABB) produisant très peu d'éthylène et sans pic transitoire apparent (Choudhury *et al.*, 2008).

Chez la variété commerciale Cavendish, la chute brutale de la production d'éthylène observée au cours de la maturation est liée à la baisse de la teneur en ascorbate du fruit, un des cofacteurs de l'ACC oxydase l'enzyme qui catalyse la dernière étape de la voie de biosynthèse de l'éthylène (Liu *et al.*, 1999). On peut supposer que la différence de teneur en ascorbate expliquerait la variabilité de profils de dégagement éthylénique observée en fonction de la variété et du stade de récolte. Cette hypothèse reste cependant à vérifier.

En mettant en évidence la non corrélation entre la quantité d'éthylène produite et la vitesse de maturation post-récolte, cette étude a mis en évidence l'importance de la capacité du fruit à répondre à l'éthylène (la sensibilité du fruit à l'hormone) comme étant un point crucial dans la relation entre l'éthylène et la maturation. Il ne suffit pas pour un fruit de produire de l'éthylène encore faudrait-il qu'il soit capable de percevoir ce signal éthylénique et d'y répondre via la mise en œuvre des processus physiologiques éthylène-dépendant.

Publications :

Chillet M. *et al.*, 2005. Is there a relationship between ethylene production of bananas ripened on the plant and the length of the fruit growth period prior to ripening onset? *Fruits*, 2005, vol. 60, p. 83–89

Hubert O. *et al.*, 2010. Effect of mode of ripening on ethylene biosynthesis during ripening of diploid banana (*Musa SPP*) fruit. *Acta Hort. (ISHS)* 879:385-392

4.8.3. Mode d'action de l'éthylène chez la banane

Les précédentes études sur la variété IDN110 a montré que le niveau d'éthylène produit par le fruit n'était pas l'unique facteur responsable de la vitesse de sa maturation du fruit. La sensibilité du fruit à l'éthylène autrement dit son aptitude à répondre à l'éthylène (ou son analogue) est un des paramètres pouvant influencer à la fois l'initiation et le déroulement post-récolte de sa maturation. Pour les fruits climactériques, l'aptitude à répondre à l'éthylène par une production auto catalytique de l'éthylène est la propriété qui, dès lors qu'elle est acquise, leur permet de mûrir de manière autonome une fois détachés du pied mère.

Aborder cet aspect de la maturation chez la banane, un fruit climactérique, nous est apparu intéressant à double titre. Contrairement au mécanisme de biosynthèse de l'éthylène, les mécanismes physiologiques qui sous-tendent l'initiation de la maturation en général et le mode d'action de l'éthylène (perception et transduction du signal) en particulier n'étaient que très peu abordés chez la banane au moment où nous avons initiés ces travaux. En effet, seul l'isolement d'un gène (*pBER27*) codant pour un récepteur qui plus est non caractérisé, avait été publié dans la littérature (Wu *et al.*, 1999). De plus, la banane est une production dont la filière tire ses revenus essentiellement de l'exportation pour cause d'éloignement géographique entre les zones de production (pays du sud) et les zones majeures de commercialisation (pays du nord). Dans le processus de mise en marché, la banane est récoltée et transportée à l'état vert vers les sites de commercialisation où leur maturation est induite par traitement à l'éthylène. La vitesse de maturation du fruit, évaluée par une échelle colorimétrique, est ensuite contrôlée en fonction des besoins du marché

(Lassoudière, 2007). Du fait de cette organisation, un des problèmes majeurs rencontré par les acteurs de la filière banane, est la maturation précoce des fruits pendant le transit (mûr d'arrivage) et/ou l'hétérogénéité de maturité des fruits en sortie de mûrisserie (**figure 8**). Dans les deux cas de figure, l'impact économique est considérable pour les acteurs de la filière. Les fruits mûris précocement sont systématiquement écartés du circuit de commercialisation avec à la clé une perte sèche pour le producteur. Quant aux fruits de maturation hétérogène en sortie de mûrisserie, ils rendent difficile la gestion des stocks mis sur le marché et accroissent ainsi les coûts de production (nécessité d'une étape de tri des fruits, difficulté à mettre en place un control global de la maturation post-récolte).

La mode d'action de l'éthylène a été abordée chez la Cavendish (AAA cv. Grande naine) pour laquelle les phases de transition ont été identifiées (**figure 7**; Chillet, 2003). Chez cette variété, cette phase est comprise entre 40 et 60 JAF (jours après floraison), cette aptitude à répondre à l'éthylène va ensuite croissante jusqu'à la maturité commerciale située autour de 90 JAF. Cette variété nous est apparue comme un bon modèle pour aborder les mécanismes physiologiques associés à la sensibilité du fruit à l'éthylène en particulier et l'initiation de la maturation en général.

Nous avons examiné, chez cette variété, les modifications transcriptomiques qui s'opèrent entre 40, 60 et 90 JAF. Deux approches ont été utilisées en parallèle:

- une approche plus ciblée sur les gènes impliqués dans la signalisation éthylénique et dont le rôle a déjà été établi chez d'autres espèces. Par cette approche, nous espérons valider chez la banane les différents niveaux d'implication de ces gènes et leur dynamique de mise en place lors de l'acquisition par le fruit de l'aptitude à mûrir.
- une approche globale « sans a priori » basée sur les banque soustractives construites à partir des ARNm extraits de tissus de peau et pulpe du fruit pris aux stades 40, 60 et 90 JAF et traités ou non à l'éthylène. Nous espérons ainsi isoler les gènes faiblement et mais différemment exprimés durant l'acquisition par le fruit de l'aptitude à mûrir et, par la même occasion, identifier les voies métaboliques nouvelles, potentiellement impliquées dans l'initiation de la maturation.

Dans le premier cas, les gènes codant pour des protéines impliquées dans la transduction du signal éthylénique ont été recherchés par amplification d'ADN in vitro au moyen d'amorces dégénérées. Deux gènes codant pour les récepteurs d'éthylène de type ERS (*ethylene responsive element*), 4 codant pour les facteurs de transcription de type EIL (*ethylene insensitive3-like*) ainsi qu'un gène codant pour une protéine homologue une protéine kinase de type CTR1 (*constitutive triple response*) ont été isolés. Peu après l'isolement des gènes *MaEILs* et *MaERS*, des séquences analogues ont isolés par une équipe japonaise et publiées dans la base de données Genbank respectivement sous les numéros AB266318 à AB266321, et AB266315 à AB266317. L'analyse comparée des séquences de l'ensemble de ces gènes a permis de distinguer au final 5 gènes *MaEIL* (*MaEIL1*, *MaEIL2/AB266318*, *MaEIL3/AB266319*, *MaEIL4/AB266320* et *AB266321*) et 4 gènes *MaERS* (*MaERS2/AB266317*, *AB266316*, *MaERS3/AB266315* et *pBER27*).

L'expression de ces gènes a été examinée au cours du développement et de la maturation fruit (**figure 9**). Quatre gènes *MaEIL1*, *MaEIL2/AB266318*, *MaEIL3/AB266319* et *MaERS/AB266316*, ont présenté une variation d'expression significative dans les deux tissus. Pendant la phase de transition (entre 40 et 60 JAF) les messagers du gène *MaERS/AB266316* diminue dans la peau et la pulpe du tissu alors qu'une légère augmentation est observée dans les phases tardives de la maturation. Quant aux gènes *MaEILs* les

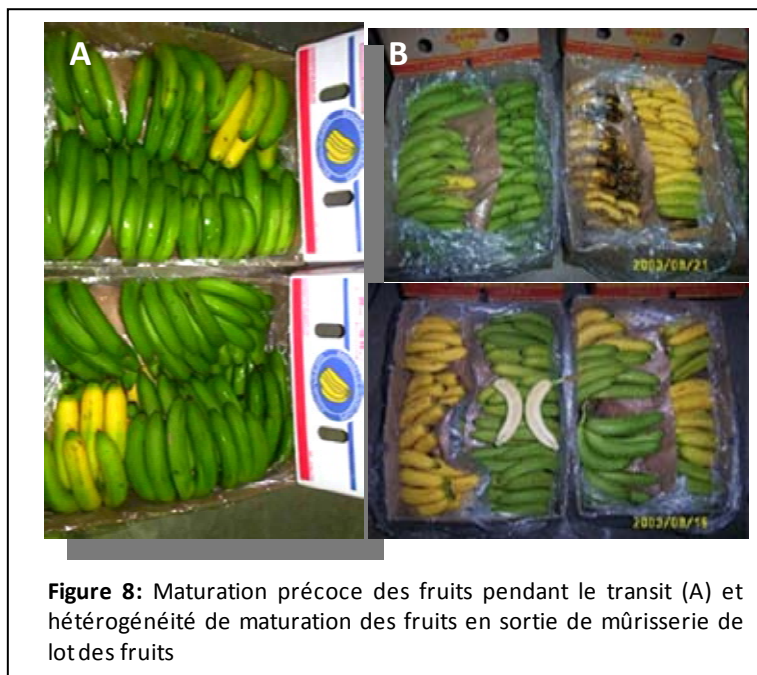
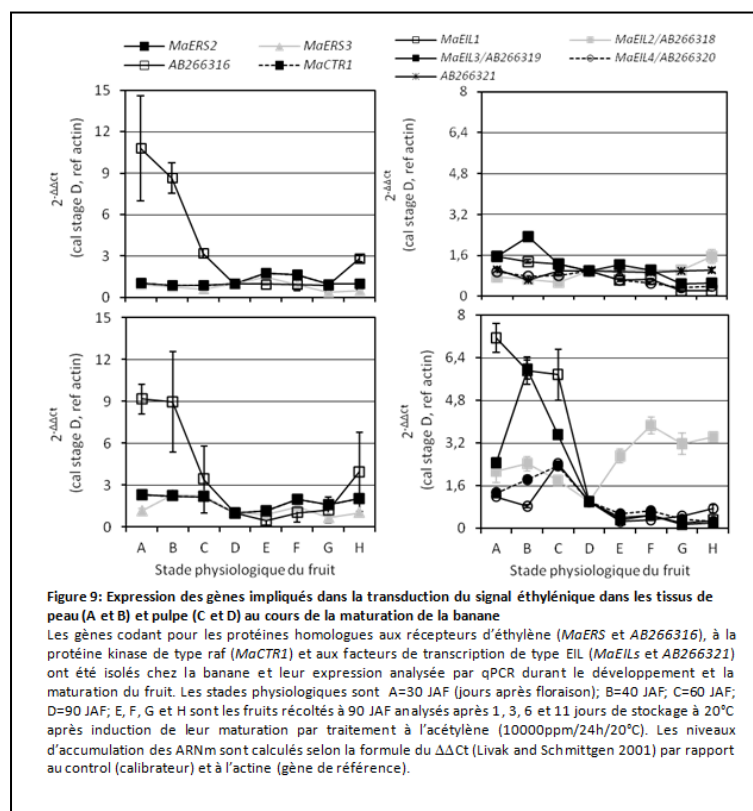


Figure 8: Maturation précoce des fruits pendant le transit (A) et hétérogénéité de maturité des fruits en sortie de mûrisserie de lot des fruits

modifications majeures de leur expression ont essentiellement été observées dans la pulpe. *MaEIL1* et *MaEIL3/AB266319* et *AB266316* diminuent significativement dans la pulpe du fruit pendant la phase de transition, alors qu'un seul gène *MaEIL2/AB266318* est induit uniquement pendant les phases tardives de la maturation.

Le rôle de l'éthylène dans la régulation de l'expression des gènes dans les tissus de peau et de pulpe a également été abordé sur des fruits traités après récolte à l'acétylène et au 1-MCP (méthylcyclopropène), respectivement analogue et inhibiteur de l'éthylène (figure 10). *MaERS/AB266316*, *MaEIL4/AB266320* et *MaEIL1* sont négativement régulés par l'éthylène dans les deux tissus, *MaEIL/AB266321* l'est uniquement dans la pulpe. L'éthylène régule positivement les gènes *MaCTR1*, *MaERS2/AB266317* et *MaERS3/AB266315* uniquement dans la peau. Concernant le gène *MaERS2* dont la séquence génomique a été isolée par criblage et sous-clonage de banque BAC, sa régulation positive par l'éthylène corrobore la présence au sein de son promoteur, de la boîte de régulation de l'éthylène ERE (ethylene responsive element) GCCGCC (annexe 3).

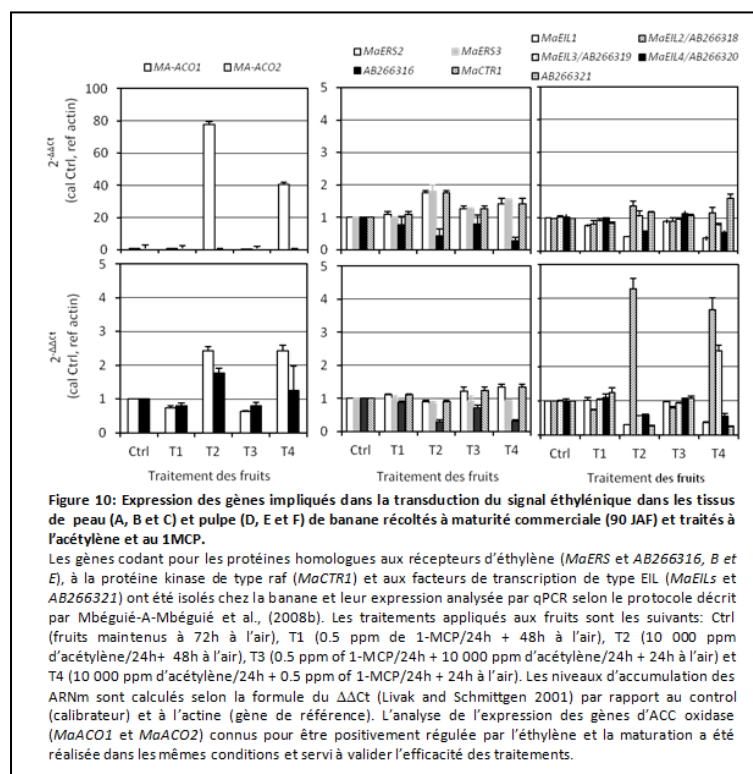


Mbéguié-A-Mbéguié D et al., 2007. Cloning and differential expression of banana genes coding for EIN3-like proteins involved in ethylene action. In: A. Ramina, C. Chang, J. Giovannoni, H. Klee, P. Perata and E. Voltering (eds), *Advances in Plant Ethylene Research: proceedings of the 7th international Symposium on the Plant Hormone Ethylene*, Springer, pp27-30. ISBN 978-1-4020-6013-7.

Mbéguié-A-Mbéguié D. et al. 2008. EIN3-like gene expression during fruit ripening of Cavendish banana (*Musa acuminata* cv. Grande naine). *Physiologia Plantarum* 133: 435–448.

Dans l'approche « sans a priori », 4 banques soustractives (plus de 3000 cDNA au total) ont ainsi été construites et l'expression différentielle des gènes qu'elles contiennent a été examinée par macroarray.

Le séquençage et l'analyse d'une partie de ces gènes ont permis de leur attribuer une fonction hypothétique. Les résultats montrent que ces gènes codent pour des protéines impliquées dans des mécanismes divers et variés. Par rapport au processus d'initiation de la maturation, il est intéressant de voir que certains de ces gènes codent pour des protéines impliquées dans le métabolisme de certaines hormones dont le méthyljasmonate (1 gène de lipoxigénase), l'acide salicylique (S-adenosyl-L-méthionine:salicylic acid carboxyl methyltransferase-like protein), l'éthylène (1 gène d'ACC oxydase) et enfin l'auxin (IAA-amino acid hydrolase). De manière



surprenante, aucun gène associé à la transduction du signal éthylénique n'a été identifié dans le pool de gène analysé, probablement parce que ce pool n'était pas représentatif de l'ensemble des gènes différentiellement exprimés durant cette phase de développement du fruit.

Publications :

Mbéguié-A-Mbéguié D. et al., 2007. Use of Suppression Subtractive Hybridization approach to identify genes differentially expressed during early banana fruit development undergoing changes in ethylene responsiveness. *Plant Sci.* 172: 1025-1036.

L'ensemble des résultats obtenus par ces deux approches a montré l'importance des facteurs de transcription de type EIL (*MaEIL1*, *MaEIL3/AB266319*) et ERS (*MaERS/AB266316*) dans l'acquisition de l'aptitude à mûrir et dans la régulation des processus mis en œuvre dans les phases tardives de la maturation (*MaEIL2/AB266318*). Cependant, comme le montre l'approche « sans a priori » l'éthylène est loin d'être l'unique facteur impliqué, d'autres hormones comme le méthyljasmonate, l'acide salicylique ou l'auxine y participeraient également. Devant la complexité des mécanismes physiologiques impliqués dans la maturation, il est surprenant de noter que, dans nos conditions expérimentales, les modifications transcriptionnelles aient touché un nombre aussi limité de gènes de la voie de signalisation de l'éthylène 1 gène ERS et 3 gènes EIL dont un seul (*MaEIL2/AB266318*) induit dans les phases tardives. Les gènes ERS et EIL font partie d'une famille multigénique dans le génome Cavendish dont tous les membres sont loin d'être identifiés d'une part (données non publiées, Mbéguié-A-Mbéguié et al., 2008b) et, de plus, de nombreuses études ont montré que les gènes ERS et EIL étaient également régulés au niveau traductionnel et post-traductionnel. Par conséquent, il est possible que le nombre limité de gènes isolés dans nos travaux ne nous aient pas permis d'identifier tous les membres ERS et EIL potentiellement impliqués dans la régulation des différents processus de la maturation. La disponibilité de la séquence complète du génome du bananier permet aujourd'hui d'accéder à l'ensemble de ces gènes. Ce travail fait l'objet d'une thèse en cours en partenariat au sein de l'UMR AGAP/Equipe SEG.

Nos résultats nous ont également permis d'apprendre un peu plus sur la régulation de l'expression des gènes EIL. En effet, ils ont montré que la transcription était une étape importante dans la régulation de l'expression de ces gènes chez la banane alors que les études, certes limitées en nombre n'avaient rapporté jusqu'alors qu'une régulation traductionnelle et postraductionnelle de ces gènes chez le fruit.

Si l'on considère les gènes ERS (*MaERS/AB266316*) et EIL (*MaEIL1*, *MaEIL2/AB266318*, *MaEIL3/AB266319*), il est intéressant de noter que l'expression des gènes EIL facteurs de transcription qui agissent en aval de la chaîne de transduction du signal, donc proches des gènes de qualité, varie significativement en nombre et pour l'essentiel dans la pulpe où se manifestent l'essentielle des nombreuses modifications associées à la qualité. Alors que celle des ERS, protéine réceptrices agissant plus en amont de la chaîne est observée dans les deux tissus. Par ailleurs, la régulation différentielle de l'expression de ces gènes par l'éthylène dans les deux tissus corrobore l'idée que les processus de maturation impliquant ces gènes s'opèrent différemment dans ces deux tissus.

4.8.4. Modifications des parois cellulaires associées à la maturation

La perte de fermeté liée à la maturation du fruit a été largement étudiée chez de nombreuses espèces compte-tenu de son caractère ubiquiste pendant le mûrissement et surtout de son impact économique sur la filière « fruits et légumes » (Fisher et Bennett, 1991 ; Bennett et Labavitch, 2008 ; Brummell et Harspter, 2001 ; Brummell, 2006). En effet, la perte de fermeté est le critère d'appréciation couramment utilisé par le consommateur lors de l'acte d'achat. Elle conditionne l'aptitude des fruits au transport et au stockage. Son impact dans la durée de vie commerciale du fruit est également non négligeable en ce sens qu'elle est indicateur du degré de sénescence du fruit, de sa sensibilité aux pathogènes post-récoltes. De ce fait, elle constitue un déterminant majeur de la qualité fonctionnelle/commerciale du fruit.

4.8.4.1. *La perte de fermeté au cours de la maturation de l'abricot*

La perte de fermeté est un processus complexe découlant des modifications des composantes majeures de la structure des parois. Ces modifications pouvant être réalisées ou non par des enzymes. Dans le cadre de mes travaux, les modifications des parois cellulaires associées à la maturation a été abordé aussi bien chez l'abricot

et la banane. Dans le premier cas, ce fut en lien avec la perte de fermeté globale du fruit et dans le second en lien avec le dégrain (rupture entre le pédicelle et le reste du fruit).

Chez l'abricot, les travaux ont porté sur 4 gènes :

- *PaPME* et *PaβGAL* codant respectivement la pectinéméthylesterase et la β -galactosidase, deux hydrolases pariétales impliquées dans la dégradation des pectines. La PME dé-estérifie les chaînes pectiques favorisant ainsi leur dégradation par d'autres enzymes pectolytiques majeures (polygalacturonase et pectate lyase) alors que la β -galactosidase achève l'hydrolyse des courtes chaînes pectiques, produits de la dégradation des pectines par les enzymes pectolytiques majeures.
- *PaEXP1* et *PaEXP2* codant des expansins, deux protéines non enzymatiques impliquées dans la rupture des liaisons ioniques entre les composés majeurs des parois. Il s'en suit ainsi un relâchement de l'architecture pariétale et une accessibilité de ces composantes aux hydrolases pariétales (Rose et al., 1997).

Les deux gènes codant les hydrolases pariétales "classiques" *PaPME* et *PaβGAL*, ont été isolés du fruit et dans lequel, ils se sont trouvés très faiblement exprimés. D'un autre côté, le fait qu'une faible activité β -galactosidase ait été détectée chez l'abricot (Cardarelli et al., 1998) suggère une faible participation, au cours de la maturation de l'abricot, de cette enzyme dans le mécanisme de dégradation des parois associé à la perte de fermeté. *PaEXP1* et *PaEXP2* sont apparus abondamment exprimés pendant la maturation du fruit comparé aux gènes *PaPME* et *PaβGAL*. Ce qui laisse à penser que l'augmentation de l'élasticité des parois ou plus largement la modification de ses propriétés physiques durant la maturation de l'abricot, contribue à la perte de fermeté du fruit. Ce processus impliquerait probablement le plus abondamment exprimé des gènes *PaEXP1*, lequel apparaît de ce fait comme un marqueur physiologique potentiel de la perte de fermeté chez l'abricot. La validation fonctionnelle du gène *PaEXP1* par une approche de génomique fonctionnelle comparée sur des variétés contrastées en terme de perte de fermeté n'a malheureusement pas pu être réalisée.

Publication:

Mbéguié-A-Mbéguié D. et al., 2002. Two expansin cDNAs from *Prunus armeniaca* expressed during fruit ripening are differently regulated by ethylene. *Plant Physiol. Biochem.* 40 (5): 445-452.

4.8.4.2. Les Modifications des parois cellulaires associées à la maturation de la banane : le dégrain

Chez la banane les modifications des parois cellulaires a été abordé à travers l'étude du phénomène du dégrain qui se traduit par fragilité du pédicelle du fruit entraînant le détachement prématuré de la banane dès la sortie de mûrisserie (**figure 11**).

Ce phénomène, couramment observé chez la banane, constitue, pour certaines variétés, une des caractéristiques majeures de leur processus de maturation. Le dégrain est un des critères de qualité fonctionnelle à fort impact économique sur la production bananière. En effet, la banane est généralement vendue par « grappe ou main » de 4 à 9 fruits reliés les uns aux autres par le coussinet. Les fruits désolidarisés du coussinet à la suite du dégrain sont systématiquement écartés du circuit de commercialisation avec à la clé, un manque à gagner pour le vendeur. De plus, le dégrain est apparu comme étant un des freins majeurs au développement des nouvelles variétés de banane issues du programme de création variétale du CIRAD, nombres d'hybrides y étant très sensibles (Daribo et al., 2007). En dépit de ces différents impacts, le dégrain comme critère de qualité, ou en l'occurrence comme défaut, n'a que très peu été étudié chez la banane où il a pourtant été décrit pour la première fois en 1983 chez la sous-espèce ou sous-groupe Cavendish (AAA) (New et Marriot, 1983). Les travaux de caractérisation physico-chimique ont montré que la propension au dégrain varie selon la variété, la ploïdie et les conditions et/ou le degré de maturation du fruit (Semple et Thompson, 1988; Saengpook et al., 2007 ; Paull, 1996; Pereira et al., 2004 ; Imsabai et al., 2006 ; Hubert et al., données non publiées). Des études biochimiques ont mis en évidence des remaniements quantitatifs et qualitatifs des composés polysaccharides pariétaux (Imsabai et al., 2006 ; Saengpook et al., 2007) et de manière concomitante, une augmentation de l'activité de certaines hydrolases pariétales du type pectate lyase et polygalacturonase.

Nos travaux sur le métabolisme des parois de la banane ont consisté à examiner au cours de la maturation l'expression différentielle des gènes impliqués dans ce processus comparativement dans la zone dégrain (ZD) et dans la zone médiane (ZM) du fruit. Les travaux ont été réalisés chez la variété commerciale Cavendish. Ils ont focalisé sur les gènes codant les hydrolases pariétales majeures (la polygalacturonase (PG), la pectinéméthylestérase (PME), les xyloglucan

endotransglycosylase/hydrolase (XTH), la pectate lyase (PL)) et les expansines (EXP) impliquées dans les propriétés physiques

des membranes. Trois gènes codant pour la PME et 7 gènes codant la XTH ont été isolés chez la banane. Leur expression ainsi que celle de 4 gènes PG (Asif et Nath, 2005), 2 gènes PL (Pua et al., 2001) et 5 gènes EXP (Trivedi et Nath 2004 ; Sane et al., 2007) ont été examinés. Les résultats obtenus ont confirmé l'implication des hydrolases pariétales dans le processus du dégrain.

Certains des gènes sont apparus plus fortement exprimés (plus de 500 fois) dans les ZD comparé à la ZM indiquant ainsi que, comparé à la ZM, un mécanisme moléculaire est spécifiquement et différenciellement mis en place dans la ZD. De plus, le profil d'expression de ces gènes au cours du temps nous a permis de proposer la séquence chronologique des événements moléculaires conduisant au dégrain. Ces événements se déroulent 1 à 4 jours après induction de la maturation, c'est à dire bien avant l'apparition des signes extérieurs majeurs du mûrissement telle que le changement couleur par exemple. Ils s'opéreraient de la manière suivante :

J1 (après induction de la maturation):

Perte des propriétés physiques des membranes (action des gènes *MaEXP1* et *MaEXP4*)

Dégradation des pectines (action des gènes *MaPG4*, *MaPEL1* et *MaPEL2*)

J2 (après induction de la maturation):

Poursuite de la perte des propriétés physiques des membranes (action des gènes *MaEXP5* en plus de *MaEXP1* et *MaEXP4*)

Déestérification et dégradation des pectines sous l'action respective du gène *MaPME2* et des gènes *MaPG* et *MaPEL*.

J3 (après induction de la maturation):

Début de dégradation des xyloglucans (action des gènes *MaXTHs 1, 3 et 6*)

J4 (après induction de la maturation):

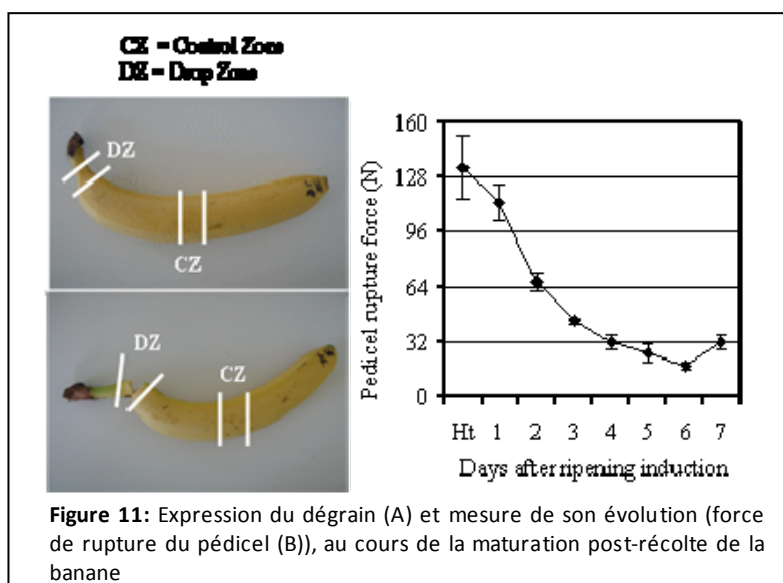
Les processus de dégrain et de perte de fermeté globale du fruit se conjuguent avec une action prédominante des gènes *MaPEL1* et plus tardivement de celle du gène *MaPG4*

L'analyse comparée de l'expression de ces gènes entre les zones dégrain et médiane a permis de proposer des gènes candidats (*MaPEL1*, *MaPEL2*, *MaPME2*, *MaPG4*, *MaEXP1*, *MaEXP4*, *MaEXP5*, *MaXET1*, *MaXET2*, *MaXTH6*, *MaXTH7*, *MaXTH8* et *MaXTH9*) dans une perspective d'identification des marqueurs moléculaires associés au dégrain.

Publication:

Mbéguié-A-Mbéguié D., et al., 2009. Expression patterns of cell wall modifying genes from banana during ripening in relationship with finger drop. *Journal of Experimental Botany* 60 (7): 2021-2034.

Mbéguié-A-Mbéguié D. et al., 2009. Cell Wall Modifying Gene expression during banana fruit ripening and in relationship with finger drop. Poster. The 6th International Postharvest Symposium. Antalya, April 8-12, Turkey.



4.8.5. Le métabolisme des sucres

Ce métabolisme a uniquement été étudié chez la banane compte-tenu d'une part de l'importance de ce métabolisme chez ce fruit et d'autre part, son lien avec la qualité organoleptique du fruit. Chez nombre de fruits, la teneur en sucres solubles du type saccharose, glucose et fructose est un des paramètres

déterminants qui influencent leur qualité organoleptique. En effet, d'une part, cette teneur globale participe à l'équilibre sucres solubles/acides organiques, dont dépend la saveur du fruit, et, d'autre part, les différents sucres solubles n'ayant pas les mêmes propriétés en terme de pouvoir sucrant ou d'index glycémique, leurs teneurs respectives peuvent également à influencer la saveur, mais aussi la qualité nutritionnelle.

Les premiers travaux ont été menés sur 4 variétés de banane diploïdes (AA) présumées contrastées en terme de métabolisme de sucres d'un côté des variétés dites à « cuire » (Galéo et Sowmuk) et de l'autre des variétés dites « dessert » (IDN 110 et Kirun). L'approche biochimique a permis de constater que les teneurs en différents sucres solubles du type saccharose, glucose et fructose, variaient d'une variété à l'autre. Les variétés dites « à cuire » sont quasiment dépourvues de saccharose, et accumulent, à la place, du glucose et du fructose, ce qui impacte vraisemblablement leur qualité gustative. L'investigation a été poursuivie, et a permis de montrer qu'une activité enzymatique responsable de l'hydrolyse du saccharose (Invertase acide) était très nettement plus importante dans le cas de ces variétés très pauvres en saccharose, et qu'un des gènes (celui d'une invertase pariétale *MacwINV1*) codant tout ou partie de cette activité y était 100 fois plus exprimé que dans les variétés accumulant du saccharose (Fils-Lycaon *et al.*, 2011). Ces résultats suggèrent que le catabolisme du saccharose chez la banane constitue un point discriminant affectant la qualité du fruit entre certaines variétés de banane, et que l'activité enzymatique de type invertase acide pourrait être le facteur déterminant de la régulation de la teneur du fruit en saccharose.

Publications:

- Fils-Lycaon B. *et al.*, 2011. Acid invertase as a serious candidate to control the balance sucrose versus (glucose + fructose) of banana fruit during ripening. *Scientia Horticulturae* 129: 197-206
- Bugaud C. *et al.*, 2011. Sensory characterisation enabled the first classification of dessert bananas. *J Sci Food Agric* 91: 992-1000
- Fils-Lycaon B. *et al.*, 2008. Metabolism of soluble sugars in 4 varieties of banana, and activity of associated enzymes. **Poster**. International Conference on Banana and Plantains in Africa: harnessing International partnership to increase research impact. Mombassa, October 5-9, Kenya.
- Julianus P. *et al.*, 2008. Evidence of acidic Invertase as control step of sucrose level during ripening of two diploid banana fruit. **Poster**. International Conference on Banana and plantains in Africa: harnessing International partnership to increase research impact. Mombassa, October 5-9, Kenya.

4.8.6. Le métabolisme secondaire

Les métabolites secondaires sont des composés qui ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse mais résultent de réactions chimiques ultérieures (Bell 1981). Il s'agit généralement de molécules biologiquement actives intervenant dans des mécanismes divers et variés (sources d'azote et/ou produits de fin de chaîne, synthèse hormone, interaction plante-plante ou plante-pathogène, intérêt nutritionnel pour l'homme etc..)

Les travaux relatifs à ce métabolisme n'ont été menés que chez l'abricot. Ces travaux se sont limités à la caractérisation du gène de la polyphénol oxydase (PPO) impliqué dans le brunissement enzymatique et de deux gènes de Zéaxanthine époxydase, protéine potentiellement impliquée dans la protection des plantes contre le stress lumineux et la biosynthèse de l'acide abscissique, hormone associée à la maturation (Demmig-Adams et Adams 1992; Marin *et al.*, 1996). Concernant la PPO, le travail a été réalisé en collaboration avec l'équipe de biochimistes de l'INRA d'Avignon dirigée par Dr FORGET-RICHARD. Ma participation dans ce travail s'est limitée à la construction de la banque d'ADNc de fruit vert ayant permis l'isolement du gène complet de la PPO et à l'étude de la famille de ce gène dans le génome d'abricot par hybridation d'ADN. Concernant le gène de la zéaxanthin époxydase, en plus de la réalisation des expérimentations, j'ai coencadré une étudiante de DUT alors en stage au laboratoire. Ce gène n'a pas fait l'objet d'une analyse d'expression comparée entre variétés contrastées.

Publications :

- Chevallier T., *et al.*, 1999. Molecular cloning and expression of a ADNc polyphenol oxydase isolated from apricot fruit (*Prunus armeniaca* cv. Bergeron). *Plant Physiol.* 119 : 1261-1269.
- Mbéguié-A-Mbéguié D. *et al.*, 2000. Molecular Cloning and Nucleotide Sequences of PA-ZE (Accession No. AF071888) and PA-ZE2 (Accession No. AF159948), Two cDNAs From Apricot Fruit Coding For a Zeaxanthin Epoxydase. *Gene Expression During Fruit Ripening. (PGR00-004) Plant Physiol.* 122: 291

5. Bilan critique des travaux scientifiques

L'ensemble des travaux menés sur l'abricot a conduit à l'enregistrement de **plusieurs séquences géniques** enregistrées dans les banques de données, **d'articles**, de **notes** publiées et de **chapitres d'ouvrage** (en premier auteur ou coauteur), et de **participations et/ou communications** sous forme de posters à des congrès internationaux (voir liste de publications). La caractérisation des gènes en relation avec la maturation du fruit a permis de mettre en place, aussi bien chez l'abricot que chez la banane, les bases moléculaires de la génomique fonctionnelle associée à la maturation de ces fruits. Ce travail a permis quelques avancées en terme de :

5.7. Génération de ressources génomiques

Les ressources de génomique fonctionnelle aussi bien chez l'abricot constituaient les premières obtenues chez ce fruit. Celles générées chez la banane, quoi que très limitées, ont contribué à renforcer le pool de ressources génomiques disponibles pour ce fruit (www.musagenomics.org) qui alors en disposait le moins en dépit de son grand intérêt économique.

L'ensemble des ressources génomiques générées chez l'abricot a par la suite été mis à profit dans le cadre d'un projet de plus grande ampleur (projet LIGNOME). Elles ont constitué le point de départ des travaux de génomique fonctionnelle haut débit et de génétique poussée avec respectivement la construction des filtres à haute densité pour l'étude de l'expression des gènes et la dérivation des marqueurs moléculaires (Grimplet, 2004). Quant aux données obtenues chez la banane, en plus de permettre d'aborder les travaux de génomique fonctionnelle décrits dans ce mémoire, elles ont été mises à profit dans le cadre du projet de séquençage du génome du bananier actuellement en cours. En effet, les séquences d'ADNc ont été mises à la disposition des bioinformaticiens pour l'entraînement des logiciels d'annotation dans le cadre du projet de séquençage du génome de bananier (d'Hont et al., 2012). Au moyen d'outils bioinformatiques, des marqueurs moléculaires de type microsatellite (marqueurs SSR) ont pu être dérivés et pour certains d'entre eux à partir des gènes potentiels candidats (**annexe 4**). La disponibilité de ces marqueurs (et d'autres à venir) permet d'envisager aujourd'hui des études de génétique poussée sur l'héritabilité des caractères. Une population issue d'un croisement dédié à ces études est actuellement en cours d'obtention.

5.2. Contribution à la compréhension des mécanismes physiologiques de la maturation

Les travaux réalisés chez la banane et l'abricot, deux fruits climactériques a permis d'apporter quelques avancées dans la compréhension des mécanismes physiologiques de la maturation. Chez l'abricot, une similitude a été mise en évidence entre le mécanisme moléculaire de la biosynthèse de l'éthylène de fruit à noyau et celui de la tomate un fruit à pépin.

Chez la banane nous nous sommes intéressés à trois aspects de la maturation : la transduction de l'éthylène en liaison avec l'acquisition de l'aptitude à mûrir, le métabolisme du saccharose et le dégrain. Nous avons montré chez la variété de banane IDN110 (AA, dessert) que la quantité d'éthylène produite n'était pas l'unique facteur responsable de la vitesse de maturation post-récolte de ce fruit. Comme chez d'autres fruits, d'autres paramètres (perception de l'éthylène et transduction du signal qui en découle, interaction avec d'autres hormones) participeraient à ce processus. Chez la banane, la modification de l'expression des gènes impliqués dans la perception et la transduction du signal éthylénique ainsi que ceux impliqués dans la synthèse d'hormones, a effectivement été observée durant la phase de transition du fruit (passage du stade apte au stade inapte à mûrir). La dynamique d'expression des gènes codant les protéines impliquées dans la transduction du signal éthylénique laisse également à penser que les tissus de peau et de pulpe auraient des rôles différents dans la chaîne d'induction de la maturation du fruit. Il faut cependant noter que nos études n'ont ciblé que trois étapes de la chaîne de transduction du signal, qui en compte plus, et pour chacune de ces étapes contrôlées par une famille multigénique, un nombre limité de gènes. Il conviendrait donc d'examiner la séquence d'induction d'autres gènes codant les protéines associées à la perception et à la transduction du signal éthylénique au cours du développement et de la maturation du fruit. La disponibilité de la séquence du génome du bananier permet aujourd'hui l'accès à ces gènes. Par ailleurs, les mécanismes associés à la transduction du signal éthylénique n'ont été abordés que sur un angle transcriptomique, ce qui ne présume en rien la présence et/ou la fonctionnalité des protéines correspondantes. Or de récentes études ont clairement démontré l'importance, pour les gènes ERS et EIL, de l'étape traductionnelle et post-traductionnelle dans la régulation de leur expression (Tieman et al., 2001 ; Kevany et al., 2007). Par conséquent, les travaux

transcriptomique réalisés sur les gènes ERS et EIL devraient être complétées par l'étude de l'accumulation des protéines correspondantes.

L'étude du métabolisme du saccharose en liaison avec la qualité organoleptique a permis d'identifier l'étape de dégradation du saccharose par les invertases acides comme limitante dans la régulation de la teneur du fruit en saccharose. Ces résultats ont été obtenus à partir d'un échantillon variétal limité et structuré (4 variétés dont 2 à cuire vs 2 dessert). Par conséquent, la différence de teneur en saccharose observée entre les variétés dessert et à cuire peut être plus liée à la structuration dessert/à cuire des variétés étudiées qu'à une différence d'expression du gène *MaCIN1*, lequel ne serait donc pas un gène candidat vrai. Il conviendrait donc de valider le caractère « vrai candidat » de ce gène sur un échantillon variétal homogène et plus large, mais contrasté en terme de teneur en saccharose. Par ailleurs, l'activité invertase acide pouvant être à double composante (vacuolaire et pariétale), il est également nécessaire d'examiner séparément le degré d'implication potentielle du (des) gène(s) vacuolaire (s) dans le contrôle de la teneur en saccharose du fruit. La disponibilité de la séquence du génome du bananier permet aujourd'hui l'accès à ces gènes. Au delà du métabolisme du saccharose, il convient également de s'intéresser à celui des acides organiques (du moins les composés majeurs) dont l'équilibre avec les sucres participe à la saveur du fruit. De récentes études sur la diversité sensorielles des bananes ont indiqué que la saveur du fruit serait plus liée à la teneur du fruit en acides organiques qu'à celles des sucres solubles (Bugaud et al., 2011). Les mécanismes associés à la régulation de la teneur en acides organiques du fruit, dont on ne sait que peu de chose en ce qui concerne la banane excepté l'isolement et la caractérisation récents d'un gène de malate synthase (Pua et al., 2003), mériteraient d'être examinés.

Enfin, nous avons mis en évidence des similarités en terme de mécanismes physiologiques entre le dégrain et la perte de fermeté. Ce qui laisse à penser que, dans la cascade de voies métaboliques qui conduit à leur élaboration, les deux processus partageraient en commun un certain nombre de voies métaboliques au delà des hydrolases pariétales. Par conséquent, il conviendrait pour le dégrain de rechercher ces voies métaboliques nouvelles.

5.3. Proposition de plusieurs gènes candidats dans la perspective d'identification de marqueurs moléculaires

Trois gènes candidats (*PaACO1* et *PaACS2* et *p69RF*) associés à la synthèse de l'éthylène, ont ainsi été identifiés chez l'abricot pour la biosynthèse de l'éthylène dans les phases tardives de la maturation. Un certain nombre de gènes a été mise en évidence comme potentiellement candidats chez la banane à savoir les gènes *MaEIL1*, *MaEIL3* et *AB266316* pour la phase de transition du fruit vers l'aptitude à mûrir, *MaEIL2/AB266318* pour les phases tardives de la maturation et *MaPME2*, *MaPEL1*, *MaPEL2*, *MaPG4*, *MaXTH6*, *MaXTH8*, *MaXTH9*, *MaEXP1*, *MaEXP4*, et *MaEXP5* pour le dégrain. Cependant et contrairement à l'abricot, les gènes potentiellement candidats identifiés chez la banane doivent encore d'être validés soit par une approche de génomique fonctionnelle comparée sur un échantillon large soit de variétés naturelles contrastées soit de population ségrégeante. Les séquences correspondant à ces gènes ont néanmoins servi de base pour dériver les marqueurs moléculaires de type SSR (**annexe 7**). Ceux-ci devront néanmoins être validés par une étude de génétique poussée aujourd'hui envisageable avec la disponibilité future d'une population dédiée.

6. Projet Scientifique

6.1. Contexte

La production bananière constitue une part très importante de l'activité économique aux Antilles Françaises, mais quasiment seule la variété Cavendish, produit générique, est exportée dans un contexte concurrentiel très difficile. Son coût de production est élevé dans les Antilles françaises comparés autres régions exportatrices (Antilles Françaises : 840-870 euros/t ; Cameroun : 630 euros/t). De plus, cette production mono variétale est aujourd'hui menacée par l'avènement de la maladie des raies noires causée par un champignon (*Mycosphaella figensis*), à laquelle est sensible l'unique variété d'exportation. Par ailleurs, la forte pression parasitaire à laquelle est soumise la culture de la banane aux Antilles entraîne une forte utilisation de pesticides. Ceci engendre des problèmes de pollution conséquents pour l'environnement et la santé humaine, notamment du fait de l'habitat dense imbriqué dans le milieu rural (Observatoire des marchés CIRAD-FLHOR, <http://passionfruit.cirad.fr>).

Dans ce contexte difficile, la disponibilité de nouvelles variétés produites dans des systèmes de production durable et à la fois résistantes aux maladies et aux qualités améliorées devient un enjeu de taille. En effet, la disponibilité de nouvelles variétés à fortes valeurs ajoutées en terme de typicité de goût débanaliserait l'offre actuelle de ce produit. La qualité du produit étant de plus en plus considéré comme un critère important de différenciation (Raynaud, 2010), il est désormais envisageable de segmenter le marché de la banane par via la création des repères de qualité spécifiques à partir desquelles pourront se différencier les productions antillaises.

Des efforts de création de nouvelles variétés de banane par hybridation naturelle ont été réalisés ces dernières années avec le développement et l'optimisation des méthodes de croisement. Ils ont abouti à l'obtention d'hybrides plus ou moins résistants aux agents pathogènes du bananier. Cependant, ces hybrides ne répondent pas aux contraintes de qualité post-récolte et commerciale exigées par la filière, ces critères de qualité n'ont été jusque là, que très peu pris en compte dans la démarche de création variétale. L'initiation, au début des années 2000, des thématiques de recherche en physiologie moléculaire de la maturation du fruit a coïncidé avec mon arrivée en Guadeloupe comme post-doctorant INRA dans le cadre du projet PHYMOBAN (physiologie moléculaire de la banane) puis comme chercheur au CIRAD.

6.2. Problématique amélioration de la qualité de la banane et enjeux

La stratégie de croisement actuellement développée dans le programme d'amélioration génétique du Cirad repose sur l'hybridation conventionnelle de variétés naturelles et la sélection des hybrides performants. Si les caractères de résistance aux maladies et les performances agronomiques ont pu être pris en compte dans la mise en œuvre de cette stratégie, il n'en est pas de même pour la qualité du fruit. Les variétés de banane les plus consommées sont en général parthénocarpiques et stériles, ce qui constitue un frein à l'amélioration de ces hybrides résistants et agronomiquement performants par simple introgression de caractères de qualité.

La qualité du fruit est un paramètre complexe. Par conséquent sa prise en compte dans la stratégie de d'amélioration variétale par hybridation naturelle telle que développée au CIRAD nécessite comme préalables, la disponibilité pour les améliorateurs et les sélectionneurs:

- *d'une base de parents potentiels élargie et caractérisée par rapport au (x) critère (s) à améliorer.* La ressource génétique banane est large avec des types dessert et à cuire. Près de 400 variétés de bananes existent en collection en Guadeloupe. Pourtant les études consacrées à la caractérisation qualitative de la banane aussi bien dessert qu'à cuire, sont récentes et parcellaires aussi bien pour les critères de qualité que pour les variétés étudiées (Ferris *et al.*, 1999 ; Morrelli *et al.*, 2003 ; Pereira *et al.*, 2004 ; Choudhury *et al.*, 2008 ; 2009 ; Gibert *et al.*, 2009 ; 2010 ; Dufour *et al.*, 2009 ; Bugaud *et al.*, 2011). Une caractérisation qualitative objective du germplasm devrait aboutir à l'identification de variétés (i) contrastées utilisables comme modèles pour les études de physiologie moléculaires par génomiques fonctionnelle comparée, et (ii) utilisables comme parents potentiels dans des schémas de croisement. Cette caractérisation fait actuellement défaut.
- *de marqueurs moléculaires associés aux critères de qualité majeurs* et utilisables comme filtres précoces dans le processus de sélections des variétés issues des croisements. Pour cela les mécanismes impliqués dans l'élaboration de la qualité doivent être mieux appréhendés, les voies

métaboliques et les gènes régulateurs identifiés à partir desquels pourront alors être identifiés des marqueurs moléculaires (approche gènes candidats).

C'est dans ce cadre que s'inscrivent les activités de recherche que je souhaite développer. Elles seront dans la continuité de celles, que je mène au CIRAD Guadeloupe depuis 12 ans, elles auront pour objectifs de comprendre les mécanismes physiologiques qui gouvernent les critères pertinents de la qualité de la banane afin d'en identifier les déterminismes génétiques associés. Elles s'inscrivent également à la fois (i) dans le projet scientifique de l'UMR QUALISUD à laquelle je suis rattaché et qui a pour objectif de développer une démarche intégrée pour la production et la préservation de produits et aliments de qualité organoleptique, sanitaire et nutritionnelle optimales et, (ii) dans le domaine thématique « *Mécanismes physiologiques et élaboration de la qualité* » de l'axe de recherche 1 « *Caractérisation et compréhension de la qualité des produits frais et transformés* ». Ces activités ont pour finalité **la production des connaissances** et s'intègrent pleinement dans l'axe 3 du projet stratégique du CIRAD « **Innover pour une alimentation accessible, diversifiée et sûre** ».

6.3. Activités de recherche envisagées

Les 13 années passées en Guadeloupe (2000-2013) m'ont permis :

- d'acquérir une bonne connaissance du bananier, à la fois sur le terrain et en laboratoire, et de développer et/ou d'initier des partenariats locaux (INRA, IUT) et hexagonaux (Cirad Montpellier, UMR BIA Nantes, Laboratoire GBF Toulouse) pour certains solides et productifs en terme de résultats, de publications et d'encadrement d'étudiants,
- de bénéficier d'un dispositif de recherche intégré et pluridisciplinaire (généticiens / agronomes / qualitiens / biochimistes / phytopathologistes) et des avancées dans la connaissance du génome du bananier aujourd'hui séquencé,
- de mettre en place un dispositif expérimental structurant et cohérent qui plus est sur un même site géographique (laboratoire de caractérisation physico-chimique équipé et opérationnel, méthodes analytiques de biologie moléculaire et de caractérisation physico-chimique optimisé, constitution et plantation d'une collection de travail),
- de bénéficier d'une éligibilité/accessibilité à des fonds captifs de type (FEDER, FCR) dont la programmation avec une visibilité de 6-7 ans, pour certains d'entre eux stabilise le dispositif et les activités.

Tous ces éléments couplés aux avancées dans la connaissance du génome du bananier permettent d'envisager avec un peu plus d'optimisme la faisabilité du projet que je propose. Ce projet allie à la fois une activité de terrain, l'utilisation d'approches novatrices type « omique » en physiologie et de génétique poussée.

Le projet proposé (schéma descriptif en **annexe 5**) sera dans la continuité de celui développé au CIRAD depuis 12 ans. Il aura pour objectif de comprendre les mécanismes physiologiques qui gouvernent les critères pertinents de la qualité de la banane afin d'en identifier les déterminismes génétiques associés et les marqueurs moléculaires par une approche gènes candidats. Le projet focalisera sur les aspects suivants:

- L'éthylène (voies de biosynthèse et de signalisation), en liaison avec l'initiation et la vitesse de maturation postrécolte,
- Les processus physiologiques majeurs associés au dégrain
- La régulation de la teneur en saccharose et en acides organiques du fruit impliquées dans la qualité organoleptique
- La régulation de la teneur en cathécholamine et plus particulièrement la dopamine, composé aux de propriétés biologique et nutritionnelle avérées.

Pour un critère de qualité donné, la démarche scientifique mise en œuvre pour aborder l'étude des mécanismes physiologiques et l'identification des gènes candidats consistera à (i) identifier les variétés contrastées pour le critère de qualité d'intérêt, (ii) examiner, à partir de ces variétés utilisées comme modèles, de la relation gène-fonction/expression-critère de qualité et identifier le(s) marqueur(s) moléculaire(s) associés par une approche gènes candidat. Le gène candidat « idéal » serait un gène différentiellement exprimé entre les variétés contrastées pour un critère de qualité donné (sensibilité au dégrain, vitesse de maturation, taux de saccharose etc) et co-localisé avec un ou des QTL de qualité.

Sur la base de cette démarche, ce projet s'appuiera sur des ressources génétiques constituées :

- d'une collection de 17 variétés naturelles de bananier représentative de la variabilité qualitative du germplasm *Musa* incluant des variétés diploïdes utilisées comme parents dans les schémas de croisement, triploïdes, de type à cuire et de type dessert. Cette collection est déjà en croissance au champs et sa caractérisation initiée.
- d'une descendance diploïde (2x X 2x) dont la plantation est prévue en 2013, issue de la combinaison parentales P. madu (AA, dessert) et Galéo (AA, à cuire).

Deux actions sous-tendront ce projet :

6.3.1. Action 1 : Caractérisation physico-chimique des différentes variétés de banane et identification des variétés contrastées

Elle consistera à suivre au cours de la maturation post-récolte l'évolution des critères de qualité d'intérêt. La variabilité du germplasm *Musa* en terme de vitesse de développement au champ des régimes et, la rapidité et l'hétérogénéité généralement observée du processus de maturation post-récolte des bananes posent deux contraintes à l'aboutissement de cette action et qu'il conviendrait de lever. D'une part, la définition des points de récolte permettant de disposer d'un matériel physiologiquement équivalent en sortie du champ et, d'autre part la mise au point d'un protocole d'induction de la maturation et de conservation post-récolte permettant une évolution progressive et homogène du processus. Pour contourner ces obstacles seront envisagés :

- Une récolte la plus tardive possible des fruits au stade IFJ (premier doigt jaune sur le régime) de manière à réduire (à défaut de s'en affranchir complètement) la variabilité physiologique entre les régimes (ou les doigts sur un même régime) à la récolte.
- Le traitement des fruits à l'acétylène (10 000 ppm/18h/20°C) suivi d'une maturation à l'air à 20°C. L'acétylène est un analogue à l'éthylène avec cependant un niveau d'affinité moins important que l'éthylène (Arshad and Frankenberger, 2002). Nous espérons dans ces conditions « souples » nous rapprocher le plus possible des conditions d'une maturation naturelle et homogène des fruits.

Cette action menée sur la collection de travail permettra d'identifier les variétés contrastées utilisables ensuite comme modèles pour les études de physiologie. Appliquée à la descendance 2x x 2x, les données issues de cette action seront destinées aux analyses QTL via des tests d'association.

6.3.2. Action 2 : Mécanismes physiologiques – Identification et validation des gènes candidats – Dérivation des marqueurs moléculaires

Indépendamment du critère de qualité, l'approche de génomique fonctionnelle comparée menée sur des variétés contrastées sera la base de cette action. Cette approche sera basée sur l'identification et l'analyse de l'expression des gènes exprimés dans le fruit et potentiellement associés au critère de qualité d'intérêt.

Deux approches non exclusives mutuellement, sont envisagées pour isoler les gènes. L'approche « globale » consistera à isoler, sans a priori, le transcriptome différentiellement exprimés et potentiellement associés au critère de qualité d'intérêt. Le caractère sans a priori de cette approche offrira également la possibilité d'identifier les voies métaboliques nouvelles potentiellement associées au critère de qualité d'intérêt. Cette approche a déjà initiée de manière concluante au laboratoire avec les banques soustractives. Dans le cadre de ce projet, les approches plus novatrices basées sur des nouvelles technologies de séquençage profond seront utilisées. L'outil bioinformatique sera ensuite mis à profit pour annoter les séquences de manière à leur assigner une hypothétique fonction. Appliqué aux variétés contrastées, cet outil permettra (i) d'apprécier à grande échelle les différences d'expression du transcriptome et donc d'accélérer l'identification des potentiels gènes candidats et (ii) d'examiner la variabilité structurelle des différents transcriptomes et d'identifier massivement des marqueurs moléculaires de types SSR ou SNPs. L'approche « ciblée » de recherche de gènes sera appliquée aux mécanismes physiologiques pour lesquelles les voies métaboliques sont connues et les étapes clé identifiées. Cette approche ciblée reposera sur amplification d'ADN in vitro et/ou l'exploitation des données issues du séquençage du génome du bananier ou des banques de données internationales.

L'expression des gènes sera analysée par PCR quantitative en temps réel au cours de la maturation des fruits contrastés. Il s'agira ici d'examiner la relation Gène/Fonction (expression)/Critère de qualité. Son aboutissement permettra d'une part de mieux appréhender la dynamique de mise en place des voies métaboliques impliquées dans l'élaboration de la qualité et, d'une part, d'identifier et de valider les gènes candidats potentiels.

6.3.2.1. L'éthylène

La biosynthèse de l'éthylène présente une variabilité liée aux variétés de bananes et/ou à leurs conditions de maturation (Choudhury et al., 2008 ; Hubert et al., 2010). Dans ce projet, des corrélations entre la quantité d'éthylène produite et la vitesse de maturation post-récolte des fruits seront recherchées à partir des données issues de la collection de travail et de la descendance. Ces données pourront ensuite être couplées aux données de génotypage dont les travaux sont en cours. Il sera alors envisageable d'identifier des QTL associés à la synthèse d'éthylène et de rechercher une éventuelle co-localisation des gènes d'ACC synthase et d'ACC oxydase dans une démarche d'identification des marqueurs moléculaires associé à la vitesse de maturation du fruit.

Un deuxième axe de travail consistera également à examiner la relation entre la vitesse de maturation post-récolte et la dynamique de l'expression des voies de signalisation éthylénique au moyen d'une approche transcriptomique. Malgré l'importance avérée des étapes de traduction et de post-traduction dans la régulation des gènes des voies de signalisation éthylénique et compte-tenu des forces disponibles, l'approche protéomique ne pourra être envisagée que dans le cadre d'une collaboration.

6.3.2.2. Le dégrain

Les activités sur le dégrain consisteront à :

- *Examiner les modifications des composantes majeures des parois* par des analyses biochimique et microscopique qu'ont laissée entrevoir les premières études moléculaires. Ces analyses seront réalisées comparativement dans les ZD (zone dégrain) et ZC (zone contrôle) de la peau, et dans la pulpe. Les fruits issues des variétés contrastées et durant les 4 premiers jours suivant leur maturation, période durant laquelle s'opéreraient les modifications majeures associées au dégrain.
- *Identifier d'autres voies métaboliques associées au dégrain* : les premières études ont mis en évidence l'implication des hydrolases pariétales dans le processus du dégrain avec une identification de candidats potentiels. Mais le dégrain est un phénomène complexe impliquant des cascades de voies métaboliques allant au-delà de l'action des hydrolases pariétales et qu'il conviendrait d'identifier. Dans le cadre de ce projet, ces voies métaboliques et les gènes régulateurs clé seront recherchés. Pour ce faire l'approche d'isolement « globale » et sans a priori des gènes par des nouvelles technologies de séquençage sera mise en œuvre sur un échantillon de 2-4 variétés contrastées. La relation entre ces gènes et le dégrain devant aboutir à l'identification des gènes candidats, sera par la suite précisée par des analyses globales du transcriptome couplées aux études d'expression génique par qPCR. Enfin la variabilité structurelle des séquences des différents transcriptomes sera examinée, des marqueurs moléculaires de types SSR ou SNPs et d'identifier et validés par des études QTL réalisées sur la descendance 2X x 2X.
- *Préciser le rôle de l'éthylène dans la régulation du dégrain*. Les premières études ont mis en évidence la précocité d'induction du dégrain qui survient dès la sortie de mûrisserie et celle d'un certain nombre de gènes connus pour être positivement régulés entre autre par l'éthylène. Ces données posent des questions sur la relation entre le processus d'initiation de la maturation de manière générale et celui du dégrain. Les mécanismes physiologiques qui sous-tendent le dégrain constituent-il une réponse primaire de la maturation globale du fruit ? Quel est le rôle de l'éthylène dans l'initiation de ces mécanismes ?

Le phénomène du dégrain étant indissociable de la maturation du fruit, l'application des inhibiteurs de l'éthylène ne peut être utilisée pour examiner la relation dégrain/maturation/éthylène. Compte-tenu de cette contrainte, la stratégie adoptée pour apprécier la part de l'éthylène d'une part et du processus globale de la maturation d'autre part, dans la régulation du dégrain s'appuiera sur le modèle Cavendish récoltés à différents stades de développement en vert (40, 60 et 90 JAF) et contrastés en terme de niveau de sensibilité à l'éthylène. L'expression des gènes codant pour la biosynthèse et la transduction

du signal éthylénique sera ensuite examinée au cours de la maturation du fruit et comparativement dans les zones dégrain et médiane.

6.3.2.3. *Le métabolisme du sucre*

L'étude du métabolisme du saccharose en liaison avec la qualité organoleptique a permis d'identifier l'étape de dégradation par les invertases acides comme étant une étape clé. Cependant, aucun gène candidat n'a pu être validé comme candidat malgré l'identification *MaCIN1* potentiellement intéressant et codant une invertase acide pariétale. Par ailleurs, la disponibilité de la séquence du génome du bananier a permis d'identifier 6 gènes supplémentaires d'invertase acide pariétale et 3 gènes d'invertase acide vacuolaire. A partir de la collection de travail et de la descendance 2x x 2x, Il convient maintenant de rechercher parmi ce pool de gènes, les candidats vrais qui co-localisent avec des QTL et dont l'expression examinée sur des variétés dessert contrastées est corrélée à la teneur en saccharose du fruit

6.3.2.4. *Le métabolisme de la dopamine*

La dopamine est un composé phénolique aux propriétés biologiques reconnues. Il est fortement présent dans la banane et l'évolution de sa teneur au cours de la maturation du fruit présente un profil contrasté dans les tissu de peau et de pulpe (Kanazawa et Sakakibara, 2000 ; Bonnet-Bruno 2012). De plus, son implication dans les mécanismes de défense contre la pourriture de couronne (une des maladies post récolte majeure de la banane), a récemment été évoquée (Lassois et al., 2011). Ce projet focalisera sur les voies métaboliques pour l'instant méconnues et régulant la teneur en dopamine chez la banane. Celles-ci seront étudiées comparativement dans les tissus de peau et de pulpe. Le rôle de l'éthylène dans leur régulation sera également abordé.

7. Références bibliographiques

- Arshad M., Frankenberger Jr WT. 2002. ETHYLENE. Agricultural Sources and Applications. Kluwer Academic/plenum publishers. New York. ISBN 0-306-46666-X
- Asif MH, Nath P. 2005. Expression of multiple forms of polygalacturonase gene during ripening in banana fruit. *Plant Physiol Biochem.* 43(2):177-84.
- Ayub R, Guis M, Ben Amor M, Gillot L, Roustan JP, Latché A, Bouzayen M, Pech JC. 1996. Expression of ACC oxydase antisense gene inhibits ripening of cantaloupe melon fruit. *Nature Biotechnol* 14: 862–866.
- Bell, A. E. 1981. The physiological role(s) of secondary (natural) products. in P. K. Stumpf and E. E. Conn (eds.) *The biochemistry of plants: A comprehensive treatise*; vol 7. Academic Press. New York, NY.
- Bennett A., Labavitch JM. 2008. ethylene and ripening-regulated expression and function of fruit cell wall modifying. *Plant Science* 175 : 130–136
- Bonnet-Bruno C. 2012. Valorisation de la banane Cavendish FWI, à différents stades physiologiques de récolte pour l'obtention par procédé de chimie verte de molécules d'intérêt biologique impliquées dans des activités anti-ulcères et cardiovasculaires. Thèse. Université Antilles Guyane, 176p
- Brummell DA., Harpster MH. 2001. cell wall metabolism in fruit softening and quality and its manipulation in transgenic plants. *Plant Molecular Biology* 47: 311-340
- Brummell D.A. 2006. Cell wall disassembly in ripening fruit, *Funct. Plant Biol.* 33 :103–119.
- Bugaud C., Deverge E., Marie-Odet Daribo M.-O., Ribeyre F., Fils-Lycaon B., Didier Mbéguié-A-Mbéguié. 2011. Sensory characterisation enabled the first classification of dessert bananas. *J Sci Food Agric* 91: 992–1000
- Cardarelli MT, Botondi R et Mencarelli F (1998). Glycosidase activity and quality changes during the postharvest ripening of apricots.- *Italus Hortus* 5: 5-Chillet M. 2003. Influence des conditions de croissance du fruit du bananier (*Musa* spp. AAA cv 'Grande naine') sur sa sensibilité à l'antracnose de blessure due à *Colletotrichum musae* (Berk. And Curt.) Arx. Ph.D., Université de Montpellier II, Montpellier, pp. 1–190.
- Choudhury SR, Roy S, Saha PP, Singh SK, Sengupta DN. 2008. Characterization of differential ripening pattern in association with ethylene biosynthesis in the fruits of five naturally occurring banana cultivars and detection of a GCC-box-specific DNA-binding protein. *Plant Cell Rep.* 27(7):1235-49.
- Choudhury SR, Roy S, Sengupta DN. 2008. A comparative study of cultivar differences in sucrose phosphate synthase gene expression and sucrose formation during banana fruit ripening. *Postharvest Biology and Technology.* 54: 15-24.
- Cara B., Giovannoni JJ. 2008. Molecular biology of ethylene during tomato fruit development and maturation. *Plant Science* 175: 106–113
- Dandekar AM, Teo G, Defilippi BG, Uratsu SL, Passey AJ, Kader AA, Stow JR, Colgan RJ, James DJ. 2004. Effect of down-regulation of ethylene biosynthesis on fruit flavor complex in apple fruit. *Transgenic Res.* 2004 Aug;13(4):373-84.
- Daribo M.O., Paget B., Bugaud C., 2007. Simple methods to evaluate the saleable life and edible life of new varieties of banana. 43ème rencontre annuelle de la Caribbean Food Crops Society (CFCs), San José, Costa Rica, 16-21 septembre.
- Demmig-Adams B, Adams III WW. 1992. Photoprotection and other responses of plants to high light stress. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 43: 599-626
- D'Hont A., Denoeud F., Aury J.-A., Baurens F.-C., Carreel F., Garsmeur O., Noel B., Bocs S., Droc G., Rouard M., Da Silva C., Jabbari K., Cardi C., Poulain J., Souquet M., Labadie K., Jourda C., Lenggellé J., Rodier-Goud M., Alberti A., Bernard M., Correa M., Ayyampalayam S., McKain M.R., Leebens-Mack J., Burgess D., Freeling M., Mbéguié-A-Mbéguié D., Chabannes M., Wicker T., Panaud O., Barbosa J., Hribova E., Heslop-Harrison P., Habas R., Rivallan R., Francois P., Poiron C., Kilian A., Burthia D., Jenny C., Bakry F., Brown S., Guignon V., Kema G., Dita M., Waalwijk C., Joseph S., Dievart A., Jaillon O., Leclercq J., Argout X., Lyons E., Almeida A., Jeridi M., Dolezel J., Roux N., Risterucci A.-M., Weissenbach J., Ruiz M., Glaszmann J.-C., Quétier F., Yahiaoui N., Wincker P. 2012. , The banana (*Musa acuminata*) genome and the evolution of monocotyledonous plants. *Nature* 488(7410):213-217.
- Dominguez M, Vendrell M. 1993. Ethylene biosynthesis in banana fruit: evolution of EFE activity and ACC levels in peel and pulp during ripening. *J. Hortic. Sci.* 68: 63–70.
- Dufour D., Gibert O., Giraldo A., Sanchez T., Reynes M., Pain J.-P., Gonzalez A., Fernandez A., Diaz A. 2009. Differentiation between cooking bananas and dessert bananas. 2. thermal and functional characterization of cultivated Colombian Musaceae (*Musa* sp.).. *J. Agricultural and Food Chemistry* 57(17):7870-7876
- Ferris R. S. B., ortis R., Vuylsteke D. 1999. Fruit quality evaluation of plantains, plantain hybrids, and cooking bananas. *Postharvest Biology and Technology.* 15: 73-81
- Fils-Lycaon B., Julianus P, Chillet M., Galas C., Hubert O., Rinaldo D., Mbéguié-A-Mbéguié D. 2011. Acid invertase as a serious candidate to control the balance sucrose versus (glucose + fructose) of banana fruit during ripening. *Scientia Hort.* 129: 197-206
- Fischer R.L., Bennett A.B., Role of cell wall hydrolases in fruit ripening, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 42 (1991) 675–703.
- Gibert O., Giraldo A., Ucles-Santos J.-R., Sanchez T., Fernandez A., Bohuon P., Reynes M., Gonzalez A., Pain J.-P., Dufour D; 2010. A kinetic approach to textural changes of different banana genotypes (*Musa* sp.) cooked in boiling water in relation to starch gelatinization *J. Food Engineering* 98: 471-479
- Gibert O., Dufour D., Giraldo A., Sanchez T., Reynes M., Pain J.-P., Gonzalez A., Fernandez A., Diaz A. 2009. Differentiation between cooking bananas and dessert bananas. 1. Morphological and compositional characterization of cultivated Colombian Musaceae (*Musa* sp.) in relation to consumer preferences. *J. Agricultural and Food Chemistry* 57(17):7857-7869
- Grimplet J. 2004. Génomique fonctionnelle et marqueurs de qualité chez l'abricot. Thèse ENSA de Toulouse. 250p
- Higo K, Ugawa Y, Iwamoto M, Korenaga T. 1999. Place cis-acting regulatory DNA elements (PLACE) database: 1999. *Nucleic Acids Research* 27, 297–300.
- Hubert O., Chillet M., Juliannus P., Fils-Lycaon B., Mbéguié-A-Mbéguié D. 2010. Effect of mode of ripening on ethylene biosynthesis during ripening of diploid banana (*Musa* SPP) fruit. *Acta Hort.* (ISHS) 879:385-392. http://www.actahort.org/books/879/879_41.htm

- Imasabai W, Ketsa S, van Doorn W. 2006. Physiological and biochemical changes during banana ripening and finger drop. *Postharvest Biology and Technology* 39, 211-216.
- Inaba A., Liu X., Yokotani N., Yamane M., Lu W-J, Nakano R., Kubo Y. 2007. Differential feedback regulation of ethylene biosynthesis in pulp and peel tissues of banana fruit. *J. Exp. Bot.* 58(5): 1047–1057
- Johnston JW, Gunaseelan K., Pidakala P., Wang M., Schaffer RJ. 2009. Co-ordination of early and late ripening events in apples is regulated through differential sensitivities to ethylene. *J. Exp. Bot.* (2009) 60(9): 2689-2699
- Kader A. 2002. *Postharvest Technology of Horticultural Crops*, 3rd Ed. p535. ISBN 1879906511
- Kanazawa K., Sakakibara H. 2000. High Content of Dopamine, a Strong Antioxidant, in Cavendish Banana. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, 48 (3) : 844–848.
- Kevany BM, Tieman D. M., Taylor M. G., Cin V. D., Klee H. J. 2007. Ethylene receptor degradation controls the timing of ripening in tomato fruit. *Plant J.* 51(3):458-67.
- Klee AJ, Hayford MB, Kretzner KA, Barry GP, Kishore GM. 1991. Control of ethylene synthesis by expression of bacterial enzyme in transgenic tomato plants. *Plant Cell* 3:1187-1193
- Kneissl ML et Deikman J (1996). The tomato E8 gene influences ethylene biosynthesis in fruit but not in flowers.- *Plant Physiol.* 112 : 537-547.
- Lassois L, De Clerck C, Frettinger P, De Lapeyre De Bellaire L, Lepoivre P, Haïssam Jijakli M. 2011. Catecholamine biosynthesis pathway potentially involved in banana defense mechanisms to crown rot disease. *Commun Agric Appl Biol Sci.* 76(4):591-601.
- Lassoudière A. Le bananier et sa culture. Edition Quae, 2007. ISBN : 978-2-7592-0046-7
- Lelièvre JM, Latché A, Jones B, Bouzayen M et Pech JC (1997). Ethylene and fruit ripening.- *Physiol. Plant.* 101: 727-739.
- Lescot M, Dahais P, Thijs G, Marchal K, Moreau Y, Van de Peer Y, Rouze P, Rombauts S. 2002. PlantCARE, a database of plant cis-acting regulatory elements and a portal to tools for in silico analysis of promoter sequences. *Nucleic Acids Research* 30, 325–327.
- Lin Z., Zhong S., Don Grierson D. 2009. Recent advances in ethylene research *Journal of Experimental Botany*, 60 (12): 3311–3336
- Liu X, Shiomi S, Nakatsuka A, Kubo Y, Nakamura R, Inaba A. 1999. Characterization of ethylene biosynthesis associated with ripening in banana fruit. *Plant Physiol.* 121(4):1257-66
- Livak KJ, Schmittgen TD. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time Quantitative PCR and the 2–DDCT method. *Methods* 25: 402–408.
- Marin E, Nussaume L, Quesada A, Gonneau M, Sotta B, Huguency P, Frey A, Maron-Poll A. 1996. Molecular identification of zeaxanthin epoxidase of *Nicotiana plumbatifolia*, a gene involved in abscisic acid biosynthesis and corresponding to the ABA locus of *Arabidopsis thaliana*. *EMBO J* 15: 2331-2342
- Mbéguié-A-Mbéguié D., Hubert O., Fils-Lycaon B., Chillet M., Baurens F.-C. 2008b. EIN3-like gene expression during fruit ripening of Cavendish banana (*Musa acuminata* cv. Grande naine). *Physiologia Plantarum* 133: 435–448
- Mbéguié-A-Mbéguié D., (2000). Isolement, Identification et Caractérisation de gènes impliqués dans la maturation de l'abricot (*Prunus armeniaca* L.). Thèse de doctorat. Université d'Aix-Marseille III. 158p
- Mbéguié-A-Mbéguié D., Gouble B., Gomez R.M., Audergon J.M., Albagnac G., Fils-Lycaon B.R. (2003). Identification of ACC oxydase and ACC synthase genes involved in autocatalytic ethylene biosynthesis of Apricot fruit. In: M. Vendrell, H. Klee, J.C. Pech, F. Romojaro (eds). *Biology and Biotechnology of the Plant Hormone Ethylene III*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 243-245. ISBN : 1566-7693
- Morrelli KL, Hess-Pierce BM., Kader AA. 2003. Genotypic variation in chilling sensitivity of mature-green bananas and plantains. *Hortecology* 13: 328-332.
- New S, Marriott J. 1983. Factors affecting the development of finger drop in bananas after ripening. *Journal of Food Technology* 18, 241-250.
- Oeller PA, Min-Wong L., Taylor L, Pike DA, Theologis A. 1991. Reversible inhibition of tomato fruit senescence by antisense RNA. *Science*. 254:437-439
- Palmer JK. 1971. The banana. In: Hulme AC, ed. *The biochemistry of fruits and their products*, Vol. 2. London: Academic Press, 65–105
- Paull RE. 1996. Ethylene, storage and ripening temperatures affect Dwarf Brazilian banana finger drop. *Postharvest Biology and Technology* 8, 65-74.
- Penarrubia L, Aguillar M, Margossian L et Fischer RL (1992). An antisense gene stimulates ethylene hormone production during tomato fruit ripening.- *Plant Cell* 4 : 681-687.
- Pereira MCT, Salomão LC C, de Oliveira e Silva S, Cecon PR, Puschmann R, de Jesus ON, Cerqueira RC. 2004. Different banana genotypes in relation to their susceptibility to finger drop and fruit characterization. *Rev. Bras. Frutic.* 26 (3): 499-502.
- Picton S, Barton SL, Bouzayen M, Hamilton AJ, Grierson D. 1993. Altered fruit ripening and leaf senescence in tomatoes expressing an antisense ethylene-forming enzyme transgene. *The Plant Journal* 3, 469–481.
- Pua EC, Ong CK, Liu P, Liu JZ. 2001. Isolation and expression of two pectate lyase genes during fruit ripening of banana (*Musa acuminata*). *Physiologia Plantarum* 113, 92-99.
- Pua EC, Chandramouli S, Han P, Liu P. 2003. Malate synthase gene expression during fruit ripening of Cavendish banana (*Musa acuminata* cv. Williams). *J Exp Bot.* 54(381):309-16
- Raynaud E. 2010. La segmentation par la qualité dans les filières fruits et légumes : Espoirs et contraintes autour de la signalisation de la qualité gustative de l'offre de tomate. *Innovations Agronomiques* 9 : 25-36
- Robert J. Schaffer, Ellen N. Friel, Edwige J.F. Souleyre, Karen Bolitho, Kate Thodey, Susan Ledger, Judith H. Bowen, Jun-Hong Ma, Bhawana Nain, Daniel Cohen, Andrew P. Gleave, Ross N. Crowhurst, Bart J. Janssen, Jia-Long Yao, and Richard D. Newcomb. 2007. A Genomics Approach Reveals That Aroma Production in Apple Is Controlled by Ethylene Predominantly at the Final Step in Each Biosynthetic Pathway. *Plant Physiol* 144: 1890-1912.
- Rose JKC, Lee HH et Bennett AB (1997). Expression of a divergent expansin gene is fruit-specific and ripening-regulated.- *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 94: 5955-5960.

- Saengpook C, Ketsa S, van Doorn W. 2007. Effects of relative humidity on banana finger drop. *Postharvest Biology and Technology* 45, 151-154.
- Sane AVA, Sane AP, Nath P. 2007. Multiple forms of α -expansin genes are expressed during banana fruit ripening and development. *Post-harvest Biology and Technology* 45, 184–192.
- Semple AJ, Thompson AK. 1988. Influence of the ripening environment on the development of finger drop in bananas. *Journal of Science Food and Agriculture* 46, 139-146.
- Tieman D.M., Ciardi J. A., Taylor M. G., Klee H. J. 2001. Members of the tomato LeEIL (EIN3-like) gene family are functionally redundant and regulate ethylene responses throughout plant development. *The Plant Journal* 26, 47-58.
- Trivedi PK, Nath P. 2004. *MaEXP1*, an ethylene-induced expansin from ripening banana fruit. *Plant Science* 167, 1351-1358.
- Wu H. T., Do Y. Y., Huang P. L.. 1999. Nucleotide sequence of a cDNA encoding ethylene receptor from banana fruits (Accession No AF113748) (PGR99-016). *Plant Physiol.* 119: 805
- Yokotani N., Nakano R., Imanishi S., Nagata M., Inaba A., Kubo Y. 2009. Ripening-associated ethylene biosynthesis in tomato fruit is autocatalytically and developmentally regulated. *Journal of Experimental Botany* 60(12):3433-42

ANNEXE 1

Séquences d'ADNc isolées chez l'abricot

Clones	n° d'accension	Taille bp	ADNc complet	Homologie	Fonctions hypothétiques
PA-ACO	AF026793	1235	oui	ACC oxydase	Synthèse d'éthylène
PA-ACS1	AF184076	894	non	ACC synthase	
PA-ACS2	AF184077	1164	non	ACC synthase	
PA-ACS3	AF184078	1104	non	ACC synthase	
p69RF	AF139500	1280	non	Protéine E8	
PA-PME	AF184079	746	non	Pectinéméthylésterase	Métabolisme des parois
PA-βGAL	AF184080	1467	non	β-galactosidase	
PA-EXP1	U93167	1019	oui	Expansine	
PA-EXP2	AF038815	1252	oui	Expansine	
pAPRI08	U82433	1012	non	d-TDP-glucose déshydratase	Métabolisme des sucres
pAPRI34	U93272	1014	non	Ppi diphosphofructokinase	
pAPRI51	AF000952	2065	oui	Transporteur d'hexoses	
AMYB	AF139501	1580	non	β-amylase	
pAPRI05	U82011	1257	oui	Méthyltransférase	Métabolismes secondaires
PA-PPO	AF020786	2070	oui	Polyphénoloxydase	
PA-ZE	AF071888	2323	oui	Zéaxanthine époxycyclase	
ZEAEPOX2	AF159948	2023	oui	Zéaxanthine poxydase(clone2)	
pAPRI13	U93271	1022	non	Enoyl CoA hydratase	Métabolisme des lipides
pAPRI86	AF071892	1219	non	Acide gras désaturase	
pAPRI15	U82330	1305	oui	Adénylate kinase	Synthèse des nucléotides pyrimidiques
pAPRI31	U95179	636	non	Azote réductase	Métabolisme de l'azote
pAPRI32	U97494	691	oui	Métallothionéine	Fixation des métaux lourds
pAPRI61	AF071890	1425	non	Sulfite réductase	Métabolisme des sulfites
pAPRI35	U93165	778	oui	Protéine Allergène	Allergies
	AF134731	778	oui	Protéine Allergène (clone 2)	Allergies
pAPRI52	U93166	1444	oui	Cystéine protéinase	Dégradation des protéines
pAPRI56	AF008910	651	non	Ubiquitine	Dégradation des protéines
pAPRI41	U93164	976	oui	Protéine ASR	Défense contre le stress hydrique
TRP	AF071895	300	non	Protéine de turgescence	Défense contre le stress hydrique
pAPRI75	AF071894	993	non	Protéine LEA	Pression osmotique
pAPRI77	AF071893	1005	non	Protéine AP2	Facteurs de transcription
HBLZP	AF139497	1127	oui	Homéobox leucine zipper	Facteurs de transcription
PA-MAPK	AF134730	1470	oui	MAP Kinase protéine	Transduction du signal
PA-CALRET	AF134733	1524	oui	Calcium binding protein	Transduction du signal second messenger
pAPRI60	AF071889	1049	oui	40S Protéine ribosomique S8	Structure du ribosome
pAPRI72	AF071891	1086	oui	40S Protéine ribosomique S4	Structure du ribosome
pAPRI39	U93168	790	oui	Protéine ribosomique L12	Structure du ribosome
PA-60SRIBPROL1	AF134732	1552	oui	60S protéine ribosomale L1	Structure du ribosome
pAPRI07	U82219	987	oui	RAB7 GTP binding protein	Trafic vésiculaire, endosomes tardifs
mFOR	AF139498	1119	oui	Porine	Structure des parois
Ribo25S	AF003997	450	non	Gène ribosomique	
pAPRI12	U82760	1810	oui	LEC 14-B protein	Inconnue
pAPRI26	U93273	776	oui	Auxin/cytokine-repressed protein	
p85RF	AF139499	1031	oui	Inconnue	
p78RF	AF139496	890	oui	Inconnue	
pAPRI50	U97530	1318	oui	Dioxygénase	

ANNEXE 2

Séquences d'ADNc et génomique isolées chez la banane

Identifiant	Nature de la séquence	N° d'Accession	Taille en bp	Homologies
pCav1	EST fragment in pGEM-T	AF420408	706	Inconnue
pCav2 (Aconitase)	3'Race cDNA fragment in pGEM-T	Unregistered		Aconitase Hydratase
pCav3	EST fragment in pGEM-T	AY053463	362	Protéase inhibitor
pCav4	EST fragment in pGEM-T	AF411955	658	Protein phosphatase 2AB regulatory subunit-like protein
pCav5	EST fragment in pGEM-T	AF416677	862	Endochitinase
pCav 6	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (11P3)	Bankit1108746	1359	Putative system A transporter isoform 2 r
pCav7	EST fragment in pGEM-T	AF419850	1020	suppressor of K+ transport growth defect-like (SDK1) salt-induced AAA-Type ATPase
pCav8	EST fragment in pGEM-T	AF420411	455	Inconnue
pCav9	EST fragment in pGEM-T	AF420410	715	Inconnue
pCav10 (MA-SAHH)	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (13R2)	Unregistered	1251	Adenosylhomocysteinase-Like
pCav 11 (MA-HSC70)	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (13V11)	Unregistered	1306	Heat shock protein 70
pCav12 (MA-UPTG1)	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (12R25)	Unregistered	1249	UPTG: Proteine Transglycosylase
pCav12-5' (MA-UPTG1)	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (12R25)	Unregistered	678	
pCav13 (MA-UPTG2)	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (13R13)	Unregistered	1249	
pCav13comp (MA-UPTG2)	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (13R13)	Unregistered	1374	
pCav14 (MA-IFR)	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (12V16)	déjà isolé chez banane	1138	IsoFlavonol Reductase
pCav15	EST fragment in pGEM-T	AY056040	1023	Inconnue mais présence de motifs O-Acetyl Transférase
pCav16 (MA-ARP)	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (22J3)	Unregistered	1824	Auxine responsive Protein / JAR1 (JASMONATE RESISTANT 1); putative auxin-responsive protein
pCav17 (MA-Aux/IAA Prot)	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (10R1)	Unregistered	546	Aux/IAA protein like
pCav18	EST fragment in pGEM-T	AF420409	706	Inconnue
pCav19 (MA-Actine)	3'Race cDNA fragment in pGEM-T	déjà isolé chez banane	905	Actine
pCav20	EST fragment in pGEM-T	déjà isolé chez banane	509	Idem que métallothioneine Banane (U49044)
pCav21	EST fragment in pGEM-T (Inv5)	Bankit1108820	491	A.thaliana zinc finger (C3HC4-type RING finger) family protein
pCav22	EST fragment in pGEM-T	AF414128	765	Calmodulin-like protein
pCav23	EST fragment in pGEM-T	AF417204	769	Germin-like protein
pCav24	5'RACE fragment in pGEM-T	Unregistered (Ea27)	1120	Putative polypeptide contains nucleic acid binding and KH domains
pCav 25	5'RACE fragment in pGEM-T	Unregistered	844	S. aurantiaca cysteine proteinase precursor (PRT22) mRNA AF411121
pCav26 (MA-GST2)	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (9R22)	Unregistered	406	Papaver somniferum glutathione S-transferase 2
pCav27	EST fragment in pGEM-T	AF414129	532	Submergence induced protéine
pCav28 (MaARF)	3'RACE cDNA fragment in pGEM-T (22B6)	Unregistered		A. Thaliana ARF GAP-like zinc finger-containing protein ZIGA3
pCav29	EST fragment in pGEM-T	AF419849	348	Inconnue
pCav30 (MaPME)	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (S4B43)	FJ264505	1923	Pectinéméthylestérase

pCav31 (MaCWI)	complete cDNA in pGEM-T (3R3)	Idem que AY180200	2049	Cell Wall Invertase
pCav32 (MaSuSy)	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (10R13)	Unregistered	1810	Sucrose Synthase
pCav32-5' (MaSuSy)	5'Race cDNA fragment in pGEM-T (SuSyRT1-2)	Unregistered	800	Sucrose Synthase
pCav33 (MaSPS)	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (S6B25)	Unregistered	1504	Sucrose Phosphate Synthase
pCav34 (MabAmy)	3'Race cDNA fragment in pGEM-T	déjà isolé chez banane	868	Beta-amylase
pCav35 (MaaAmy)	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (12V11)	Idem que AF533648	1320	Alpha-Amylase
pCav36 (MaPFP3)	complete cDNA in pGEM-T (22R3)	Unregistered	1951	Pyrophosphate dependent phosphofructokinase
pCav37 (MaPFP2)	5'Race cDNA fragment in pGEM-T (PFP19)	Unregistered	1065	Pyrophosphate dependent phosphofructokinase
pCav38 (MaPFP1)	complete cDNA in pGEM-T	Unregistered		Pyrophosphate dependent phosphofructokinase
pCav39 (MaACO1)	complete cDNA in pGEM-T	déjà isolé chez banane	1078	ACC oxydase
pCav40 (MaACO1 Inaba)	cDNA Fragment in pUC 118	déjà isolé chez banane	844	ACC oxydase
pCav41 (MaACS1 Inaba)	5'Race fragment in pUC118	déjà isolé chez banane	1063	ACC synthase
pCav42 (MaACS2 Inaba)	cDNA fragment in pU118	déjà isolé chez banane	1103	ACC synthase
pCav43 (MaACS3 Inaba)	cDNA fragment in pU118	déjà isolé chez banane	1103	ACC synthase
pCav44 (MaERS2)	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (6-20)	AF445195	1293	Ethylene receptor2
pCav45 (MaERS3)	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (101-2)	AF445196	1676	Ethylene receptor3
pCav45-5' (MaERS3)	5'Race cDNA fragment in pGEM-T (ER1)	Unregistered	1300	Ethylene receptor3
pCav46 (MaEIL1)	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (22V1)	Unregistered	1800	EIN3-Like
pCav47 (MaEIL2)	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (22V2)	Unregistered	1841	EIN3-Like
pCav48 (MaEIL3)	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (22V3)	Unregistered	1920	EIN3-Like
pCav49 (MaEIL4)	Complete cDNA in pGEM-T	Unregistered	2448	EIN3-Like
pCav50 (Madad1-like)	Complete cDNA in pGEM-T	Unregistered	583	Defender Against apoptotic Death 1 (dad1 gene)
pCav51	3'Race cDNA fragment in pGEM-T	Unregistered	1250	Protein kinase family protein / peptidoglycan-binding LysM domain-containing protein
pCav52	3'Race cDNA fragment in pGEM-T	Unregistered	900	Picea sitchensis clone WS0279_B10 unknown mRNA
pCav53 (MaCTR1-like)	3'Race cDNA fragment in pGEM-T	Unregistered	1925	CTR-like
pCav54	3'Race cDNA fragment in pGEM-T	Unregistered	704	Arabidopsis thaliana putative protein transport protein SEC12p (At2g01470) mRNA
pCav55	5'Race cDNA fragment in pGEM-T (clone 25-25)	Unregistered	952	EIN3-Like
pCav56	5'Race cDNA fragment in pGEM-T (clone 25-28)	Unregistered	1082	EIN3-Like
pCav57	5'Race cDNA fragment in pGEM-T (clone 25-31)	Unregistered		EIN3-Like
pCav58	5'Race cDNA fragment in pGEM-T (clone25-42)	Unregistered	842	EIN3-Like
pCav59 (MaXTH3)	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (clone 1-72)	FJ264506	1100	Xyloglucan EndoTransferase
pCav60 (MaXTH4)	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (clone 1-29)	FJ264507	1100	Xyloglucan EndoTransferase
pCav61 (MaXTH5)	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (clone 1-93)	FJ264508	1100	Xyloglucan EndoTransferase
pCav62 (MaXTH6)	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (clone 1-82)	FJ264509	1100	Xyloglucan EndoTransferase
pCav63 (MaXTH7)	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (clone 1-36)	FJ264510	1100	Xyloglucan EndoTransferase
pCav64 (MaXTH8)	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (clone 1-53)	FJ264511	1100	Xyloglucan EndoTransferase
pCav65 (MaXTH9)	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (clone 1-46)	FJ264512	1100	Xyloglucan EndoTransferase

pCav66 (MaXETsup 2)	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (clone 1-23)	Unregistered	1100	Xyloglucan EndoTransferase
pCav67 (MaXETsup 3)	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (clone 1-28)	Unregistered	1100	Xyloglucan EndoTransferase
pCav68 (MaXETsup 4)	RT-PCR cDNA fragment in pGEM-T (clone 3-3)	Unregistered	500	Xyloglucan EndoTransferase
pCav69 (MA-PIP1like)	3'RACE-PCR cDNA fragment in pGEM-T (clone 1-43)	Unregistered	1100	Aquaporine-like protein
pCav70	3'-RACE-PCR cDNA fragment in pGEM-T (clone 2-9)	Unregistered	2000	Jatropha curcas aquaporin mRNA, complete cds
pCav71	Genomic Sequence (BAC clone MaC077E20 and MaC088K20)	AC226050 / ACC226051	3365	MaPME2
pCav72			3186	MaPME3
pCav73			1645	MaPectine esterase inhibitor
pCav74	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (clone 2-36)	Unregisterd	925	BSD domain-containing protein
pCav75 (cDNA RGP3 clone 341)	3'Race cDNA fragment in pGEM-T	Unregistered	1384	RGP like complet cDNA sequence
pCav76 (Lypox clone Geno)	Genomic fragment in pGEM-T	Unregistered	476	Fragment génomique lipoxygenase-like
pCav78	Genomique fragment	Unregistered	621	Proteine kinase like
pCav79 (MaXTH10)	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (clone 19)	Unregistered	1100	Xyloglucan EndoTransferase
pCav80	Génomique fragment Promoteur <i>MaRGP2</i> (clone GW 26)	Unregistered	294	Fragment génomique promoteur1 MaRGP2
pCav81	Génomique fragment Promoteur <i>MaRGP2</i> (clone GW 28)	Unregistered	292	Fragment génomique promoteur2 MaGP2
pCav82	Génomique fragment Promoteur <i>MaRGP2</i> (clone GW 52)	Unregistered	342	Fragment génomique promoteur 3 MaRGP2
pCav83	Génomique fragment 3'UTR <i>MaRGP2</i> (clone GW 66)	Unregistered	440	Fragment génomique partie 3'UTR MaRGP2
pCav77	Génomique fragment Promoteur <i>MaRGP3</i> (clone GW 67)	Unregistered	544	Fragment génomique promoteur1 MaRGP3
pCav84	Génomique fragment Promoteur <i>MaRGP3</i> (clone GW 80)	Unregistered	599	Fragment génomique promoteur2 MaGP3
pCav110	Génomique fragment Promoteur <i>MaRGP3</i> (clone GW 84)	Unregistered	545	Fragment génomique promoteur 3 MaRGP3
pCav85	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (clone 124)	Unregistered	726	Ethylene over producer
pCav86	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (clone 109)	Unregistered	484	neutral/alkaline Invertase
pCav87	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (clone 110)	Unregistered	291	neutral/alkaline Invertase
pCav88	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (clone 135b)	Unregistered	768	Glutamate décarboxylase
pCav89	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (clone 3)	Unregistered	664	MaMADS1 (partie 3'UTR du clone SSh 2e08)
pCav90	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (clone 145)	Unregistered	447	Ricinus communis clathrin heavy chain, putative, mRNA
pCav91	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (clone 143)	Unregistered	323	Zea mays NADPH HC toxin reductase (hm1) gene / Gène de résistance
pCav92	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (clone 157)	Unregistered	264	Ethylene responsive factors
pCav93	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (clone 158)	Unregistered	296	Ethylene responsive factors
pCav94	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (clone 160)	Unregistered	323	Ethylene responsive factors
pCav95	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (clone 16)	Unregistered	532	Oryza sativa (indica cultivar-group) IAA-amino acid hydrolase (IAR) mRNA, complete cds
pCav96	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (clone 19)	Unregistered	641	Oryza sativa (indica cultivar-group) IAA-amino acid hydrolase (IAR) mRNA, complete cds
pCav97	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (clone 25)	Unregistered	633	Oryza sativa (indica cultivar-group) IAA-amino acid hydrolase (IAR) mRNA, complete cds
pCav98	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (clone 34)	Unregistered	607	Oryza sativa (indica cultivar-group) IAA-amino acid hydrolase (IAR) mRNA, complete cds
pCav99	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (clone 42)	Unregistered	531	Oryza sativa (indica cultivar-group) IAA-amino acid hydrolase (IAR) mRNA, complete cds
pCav100	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (clone 43)	Unregistered	473	Oryza sativa (indica cultivar-group) IAA-amino acid hydrolase (IAR) mRNA, complete cds
pCav101	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (clone 45)	Unregistered	496	Oryza sativa (indica cultivar-group) IAA-amino acid hydrolase (IAR) mRNA, complete cds

pCav102	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (clone 37)	Unregistered		Solanum tuberosum vacuolar processing enzyme 1 (VPE1) mRNA, complete cds
pCav103	Génomique fragment Promoteur <i>MaCWI1</i> (clone 172)	Unregistered	472	Promoteur 1 gène MaCWI
pCav104	Génomique fragment Promoteur <i>MaCWI1</i> (clone 177)	Unregistered	710	promoteur 2 gène MaCWI
pCav105 (MaXTH11)	5'Race cDNA fragment in pGEM-T (clone 57)	Unregistered	489	Xyloglucan EndoTransferase
pCav106 (MaXTH12)	5'Race cDNA fragment in pGEM-T (clone 53)	Unregistered	439	Xyloglucan EndoTransferase
pCav107 (MaXTH13)	5'Race cDNA fragment in pGEM-T (clone 56)	Unregistered	490	Xyloglucan EndoTransferase
pCav108 (MaXTH14)	5'Race cDNA fragment in pGEM-T (clone 55)	Unregistered	490	Xyloglucan EndoTransferase
pCav109 (MaXTH15)	3'Race cDNA fragment in pGEM-T (clone 78)	Unregistered	311	Xyloglucan EndoTransferase
pCav111 (MaXTH16)	Fragment RT-PCR in pGEM-T easy (clone 97)	Unregistered	213	Xyloglucan EndoTransferase
pCav112 (MaCTR2)	Genomic fragment in pGEM-T easy (clone GW4)	Unregistered	520	CTR-like
pCav113 (MaCTR3)	Genomic fragment in pGEM-T easy (clone GW40)	Unregistered	557	CTR-like
pCav114 (MaCTR4)	Genomic fragment in pGEM-T easy (clone GW44)	Unregistered	521	CTR-like
pCav115 (MaRGP2)	cDNA fragment in pGEM-T (clone 98)	Unregistered	1100	MaRGP2 protéine récombinante (anticorps)
pCav116 (MaRGP2)	cDNA fragment in pGEM-T (clone 98)	Unregistered	1100	MaRGP2 protéine récombinante (anticorps)
pCav117 (MaEIL2)	cDNA fragment in pGEM-T (clone 103)	Unregistered	1000	MaEIL2 protéine récombinante C-Terminale (anticorps)
pCav118 (MaEIL2)	cDNA fragment in pGEM-T (clone 104)	Unregistered	1000	MaEIL2 protéine récombinante C-Terminale (anticorps)
pCav119 (MaEIL2)	cDNA fragment in pGEM-T (clone 105)	Unregistered	1000	MaEIL2 protéine récombinante C-Terminale (anticorps)
pCav120 (MaEIL2)	cDNA fragment in pGEM-T (clone 106)	Unregistered	1000	MaEIL2 protéine récombinante C-Terminale (anticorps)
pCav121 (MaEIL6)	Genomic sequences Contig	Unregistered	3728	Génomique sequence encoding for EIN3-Like protein

ANNEXE 3

Séquence partielle du promoteur du gène MaERS2. Les motifs GCCGCC correspondant à la boîte de régulation de l'éthylène ERE (ethylene responsive element) sont indiqués en rouge. Ces motifs ont été identifiés *in silico* par analyse bioinformatique au moyen des logiciels PLACE (Higo et al., 1999) et PLANT CARE (Lescot et al., 2002)

```
>PromoteurERS2/5'UTR
Cataaagactttccccgaggcggttaaccatacctccttcgtcgtgcaccttatccgctgtttatcacctccacgacgactccgacacttctggg
aatagttcttcgcacgccaacacccgaaaaagaccgagccacgggttaacacgtggctccctgatcaccccgattgcgtaggacatgcgtc
acaccacgggcgccgccggttggtatcctctccaactacgccgtcaattgtgacctcgatttctcatcttaccggtccgatggtcctgatc
gcggtgtaacaattggaggggatcccatcccgtgcagacaaacctttggccccatgacacgggtgggacccttccgctttcccttcttcggca
aaggaggtggatagagaaagctataataaactcaggaactccctcttccagaagagtcctttccgtcgagcggagacgacgacgacggc
ggcgccgccggttgaaacgccccaaactggagctgcttctccctttcttctacgatctgaggtgcgatctccctttgaccactgattcggtt
ccaattttattcctttccagctcgtcttccgtccaccggcggtttgggtggaccaaagattttggtttgatgtcccttcggactccagatctcggtt
cctcttccgtttacttttgggtctgtgttgggtggagcggtccgtaaattcgaaattttgagtggtaccagtgcgacgagttctagggctt
ggtgcaattagtgagttcgagatggtggatcagtggggttcaatcgttctcgagaacattcatgggttgaggtgttcgatatggccgcttgatc
gaaagtgggtgtgatggattgaaaaacttagctatcatagttagcatgcaatgatgttaatcttgacgagtgactgttcttttggacattaa
ttcccttgcatgcgttaattatggaggaatctttcccagggaaggcaactattcgtagcacacatccacttctacacgtgcaagcaccaa
ctacagagaagggttacgatcgtaggccatataagctggatgagattcccagcaaggacaactcgaggttcatctcgtctaggattagaact
acacaattccataatctcatcaaaggtaaacacgtttctaccactaaattaactgggtcaacacttaaggctcatctttggccttcatgatttaa
acgtgggtcacagtgtataagtgaatgaggtatgcgtatgtagtggctatgtatgaagttcatatgatgttcatattaaaatattgaaaaagga
caataattttgttaaaaagaataaatgttaaccgattttaattaattattagctaatttaagctatggccaactcaagaattcatggatacaa
ttttattttcaagtgatgagttatgggccttccatcaaaggataactaaattacttggatacatgttggttacatgtcgcatgtgattgctgaag
atacttcgaataattcaattagggtactagttaaataacaaacacttggttttgggttctgtgatgtgcctttgctatgtcaattttcttatta
gtggcccatatctaaattaatgctttataagaatgaataaacagtctaattgactaatggtaggttattacgaggtcatcataaacaacattatt
ggcatggaactaggatccaaatcatgcatgctccgttcccatctatcttactccctctgtttatttgagcaatctatgataagtatctactattt
ctttctgcatgtttgaaaattatttattgtcttctgtgtagtttctgacacaaacatatagacaatgttgtaattcggcttatgcaataaaatat
ccatgctttatcaagctttgtccatttttgactattgactaggaaatttctctgtagggatgtagaag
```

ANNEXE 4

Locus/primer	ID library	Blast	SSR	FORWARD PRIMER1 (5'-3')	Tm(°C)	REVERSE PRIMER1 (5'-3')	Tm(°C)	PRODUCT size (bp)
mMECIR0491	pCav6	hypothetical protein [Oryza sativa (japonica cu.	(AT)6	TTCTGCTGCCATTACAC	56	CTTACAGGGTGCCAACAA	55	230
mMECIR0492	pCav13_cDNA_complet	UDP-glucose:protein transglucosylase-like protein	(TCT)5nnn(GA)8	TGGATCTGTTTTTGTGTG	55	TCGTTTCGGTTGTAGAGC	55	250
mMECIR0493	pCav21	At2g01275 [Arabidopsis thaliana]	(AAG)5	GGAGGTCAGAAGCACGA	56	TTCAAGCTGCCACAACA	56	188
mMECIR0494	pCav22	calmodulin-like protein [Musa acuminata]	(TG)6c(GT)12	CATGATACGGCTTACGA	56	TCAATTACCAGCATCCTTACTT	56	266
mMECIR0499	SSH didier cl14	class III acidic chitinase [Musa acuminata]	(AG)8	GCTTGCCCTTTGGTTGTG	56	CCAGTAGACGCCAATGC	56	172
mMECIR0500	SSH didier cl3	Mettalothionein like	(AG)9	CAGCAGACGCACACAAA	56	GCAACTGCAAATGAGGG	56	250
	pCav121	MaElL6-1	(ag) 10	GCATGGCATATCCCAGACTT		GAAATGAAATCACTGCTGCAA		197
		MaElL6-2	(ta) 10	AGCCACAGATATCGGAGCAA		TCCGTTTTCGTTGTGTCTTG		200
	pCav	MaERS2 (Genomic)	(tg) 5	AGGATGGAAGCCTTGAGCTA		GACAGCTGCAATTGGCTTTA		198
	pCav63	MaXTH7-1	(ag) 10	GTGCAGAGGAACTACATGGT		TCAGCAGCCTACATAAGAAGA		165
	pCav66	MaXTH7b-1	(ga) 9	GAACCAGGAGCTGGACTT		TCAGCAGCCTACATAAGAAGA		198
		MaXTH7b-2	(tc) 5	Primer not found		Primer not found		No product
	pCav67	MaXTH7c-1	(ga) 6	GAACCAGGAGCTGGACTT		TCAGCAGCCTACATAAGAAGA		198
	pCav65	MaXET9-1	(tc)5	Primer not found		Primer not found		No product
	pCav79	MaXTH10	(ag) 10	GTGCAGAGGAACTACATGGT		TCAGCAGCCTACATAAGAAGA		165
	pCav105	MaXTH11 (5'UTR)	(agaa) 4	Primer not found		Primer not found		No product
	pCav107	MaXTH13 (5'UTR)	(agaa) 4	Primer not found		Primer not found		No product
	pCav108	MaXTH14 (5'UTR)	(agaa) 4	Primer not found		Primer not found		No product
			(ta) 14	CAGCTATGAAGAAATCTCTGTAATTC		TTGTCCCAAGGGATGAAAAA		375
	pCav71	MaPME2	(ct) 5	CTGTTTGACCGCTAACGTA		CCCGAGGTCAGATGATGAAG		192
			(ct) 8	CCCTAACGGCACTCTATTTCC		CGAGACAAGAAAAGCCAAGG		210
			(ct) 8	CTCGGCAAAAGCTGATTAC		TCAAACCACGCTGCAAACTA		204
			(ctt) 6	Primer not found		Primer not found		No product
	pCav72	MaPME3	(tcc) 5	CCATTTCCCTTGAAGGAGT		TCGGATGAAGCTGGATTACC		198
			(ttcc) 5	Primer not found		Primer not found		No product
			(ttcc) 4	Primer not found		Primer not found		No product
	pCav74	BSD domain-containing protein	(at) 5	Primer not found		Primer not found		No product
	pCav104	MaCWI Prom 2	(aat) 5	Primer not found		Primer not found		No product
			(aat) 5	GCCGTATATATCGAGGATTGG		GAGGAAGAGGGCACTGTTGA		195
		MaCIN1.1	(ctc) 7	GGAAGTGGATCAACGGTACG		CACTCGATTACGTGGGGAAG		199
			(atg) 8	Primer not found		Primer not found		No product
			(ta) 10	ATGGGAGATGAAAGCACCAG		GTTGCTTTGGACCACGATG		198
		MaCIN2	(ac) 7	ATGGGAGATGAAAGCACCAG		GTTGCTTTGGACCACGATG		198
		MaCIN3						

MaCIN4	(ta) 5	TTGCCAGTGTTTCATGCAAAT	AGAAGGTCCCAAGGGGTTTA	200
	(ta) 5	ACTTTTGCCGGCTTCGTT	GGCTCCAAAACCTCCACAA	213
MaCIN6	(caaa) 3	Primer not found	Primer not found	No product
	(ct) 15	AAAACCTGGCAAATGAGCAG	GAGTGAGCCCAATGGATGTT	201
	(ctca) 3	AAAACCTGGCAAATGAGCAG	GAGTGAGCCCAATGGATGTT	201
	(tc) 7	Primer not found	Primer not found	No product
	(ct) 14	GTCGTCTCCTCCATGATGCT	CGGGGAACGTACGTAGTTAGT	200
MaCIN7	(ac) 11	GTCGTCTCCTCCATGATGCT	CGGGGAACGTACGTAGTTAGT	200
	(ct) 12	CTACGTACGTTCCCGTACC	AGTGTGCCACACGATGTT	208
	(ac) 9	CTACGTACGTTCCCGTACC	AGTGTGCCACACGATGTT	208
	(ctc) 5	TGCTTCGTTGTCGACAGTA	AAGCAACCGTGAGAGCAAAT	219
	(ccg) 6	TCGCAAGTTTTTCGCATATCT	GATGGTCAGGGTGGAGAAGA	208
MaVIN1	(ctt) 5	GTCCTACCCCTGGACCAACT	TCACAACGAGTAGCCCATGA	201
	(ga) 10	TTAGCCCGCATTGTTAGAGG	GCGAGGTGGCAGAACATTAT	189
	(ga) 5	TCAGGCGAAATGAAAGATCC	TGTTTCCCACCTTGCTTCA	194
MaVIN2	(gt) 10	CCACGTCGGTTAAGATCTGG	TTCCCGCAACAGCAAATTAT	206
	(ctc) 5	TGTTCTTCGTTTCCTCCTG	GCTGCAAGCACTTCTTCCTC	182
	(cttccc) 3	ACGCCTCCAAGACGTTCTAC	GGAACAGGACCTTCAATGCT	231
MaVIN3	(ct) 8	GGACCAAAGAAATGCTCCAA	TTTGGATCTGATGCATGGAA	202
	(ata) 6	Primer not found	Primer not found	No product
	(aaaga) 3	Primer not found	Primer not found	No product

ANNEXE 5 : SCHEMA SYNTHETIQUE DU PROJET DE RECHERCHE

